



Università di Pisa

Facoltà di Agraria

**Dottorato di ricerca in
“Scienza delle Produzioni Vegetali Eco-
compatibili”**

Presidente del Consiglio di Dottorato
Prof. Stefano Morini

***“Aspetti qualitativi e salutistici dei frutti da
consumo fresco”***

Dottoranda

Dott.ssa Silvia Tavarini

Tutore

Dott.ssa Lucia Guidi

Pisa, 28 Novembre 2008

RIASSUNTO

E' oramai accertato scientificamente come il consumo quotidiano di frutta e verdura giochi un ruolo importante nel prevenire numerose malattie croniche degenerative come il cancro, cardiopatie, osteoporosi, arteriosclerosi e l'invecchiamento cellulare. Gli effetti benefici del consumo abituale dei prodotti ortofrutticoli sono dovuti alla presenza di minerali, fibre, acqua, ma, in particolare, al loro alto contenuto in composti antiossidanti, normalmente conosciuti in letteratura come fitochimici, quali i composti fenolici, i carotenoidi e le vitamine C ed E. Attraverso vari meccanismi i composti fitochimici sono in grado di contrastare l'eccessiva formazione dei radicali liberi, ovvero le specie reattive dell'ossigeno (ROS). Per questa ragione i prodotti ortofrutticoli assumono lo status di cibi funzionali in quanto, oltre al basso apporto calorico, sono una fonte di utili agenti antiossidanti. Il consumatore moderno ha preso coscienza di quest'ultimo aspetto ed, infatti, ricerca sempre più la salubrità del prodotto che, per ottenerla, implica numerosi aspetti del processo produttivo sia in pre- che in post-raccolta.

Lo scopo della ricerca era la valutazione di alcuni fattori di pre- e post-raccolta sugli aspetti qualitativi e salutistici di frutti da consumo fresco: la pesca ed il kiwi. Le analisi effettuate erano relative alla determinazione delle principali caratteristiche organolettiche (pezzatura, consistenza della polpa, contenuto in solidi solubili ed acidità titolabile) nonché di quelle nutraceutiche (capacità antiossidante, contenuto in fenoli, acido ascorbico, carotenoidi). I fattori presi in esame sono stati:

- genotipo, visto nelle due accezioni di cultivar e di portinnesto
- epoca di raccolta
- posizione del frutto sulla pianta e, conseguentemente, effetto della diversa intercettazione della radiazione luminosa
- management idrico
- modalità di conservazione (effetto della conservazione in cella frigorifera e a temperatura ambiente)

Le pesche utilizzate in questa tesi provenivano dall'Azienda Sperimentale del Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose "G. Scaramuzzi" dell'Università di Pisa, a Colignola (PI), mentre i kiwi sono stati forniti dall'Azienda Agricola Camillo Pacini e Figli di Rigoli (PI).

Lo studio relativo all'influenza del genotipo sulle caratteristiche qualitative delle pesche ha dimostrato come la diversità genetica giocasse un ruolo prioritario nel determinare la capacità antiossidante. E' stato visto come quest'ultima fosse maggiormente correlata alla singola cultivar in esame piuttosto che al gruppo di appartenenza (pesche a polpa gialla, a polpa bianca, percoche e nettarine). Il risultato più significativo ha evidenziato come la capacità antiossidante non fosse determinata dal contenuto totale in fenoli, ma dalla struttura chimica di questi composti. Per quel che riguarda l'influenza del portinnesto, i risultati ottenuti non ci hanno permesso di

delineare un comportamento comune per quelli di egual vigoria; infatti, l'Mr.S.2/5, tipico portinnesto a bassa vigoria, ha dimostrato indurre nei frutti di Flavorcrest un'elevata capacità antiossidante, non registrabile nei frutti delle piante innestate su Ishtara, anch'esso di bassa vigoria. Non è ancora chiaro, tuttavia, in che modo il portinnesto eserciti la sua influenza sulla qualità; certamente importanti fattori sono coinvolti in questo processo come ad esempio la struttura della chioma, la quantità di luce intercettata, la disponibilità di nutrienti ed acqua, la concentrazione di regolatori della crescita.

Anche l'epoca di raccolta è risultata essere un importante fattore nel determinare le proprietà organolettiche e nutrizionali del frutto. Nel kiwi, un ritardo dell'epoca di raccolta determinava una riduzione del contenuto in acido ascorbico, principale fitochimico di tale frutto, mentre non si registravano variazioni significative nella capacità antiossidante. Nelle pesche, l'epoca di raccolta influenzava significativamente sia il contenuto in fitochimici che la capacità antiossidante, anche se non era possibile correlare il contenuto di fenoli totale della polpa con lo stadio di maturazione del frutto. Diversamente, nella buccia, ritardando l'epoca di raccolta si determinava un accumulo significativo dei composti fenolici. Inoltre, lo stadio di maturazione determinava un incremento del β -carotene nella polpa a seguito dell'aumento del processo di carotenogenesi.

La disponibilità idrica ha dimostrato essere importante ai fini delle caratteristiche organolettiche (pezzatura e contenuto in solidi solubili) e fitochimiche (acidi idrossicinnamici, antocianine e procianidine) in frutti di pesco, cv Suncrest. Questi risultati suggeriscono come un risparmio idrico possa essere efficacemente utilizzato per migliorare la qualità dei frutti e delle produzioni.

Un importante fattore studiato è stato la modalità di conservazione nei frutti di kiwi. I risultati hanno dimostrato come la frigoconservazione, indipendentemente dall'epoca di raccolta, determinasse effetti negativi sulla consistenza della polpa e sulla capacità antiossidante. Le sostanze fenoliche a seguito di una lunga frigoconservazione (5 mesi a 0°C) subivano un incremento così come dopo la permanenza dei frutti per una settimana a temperatura ambiente. Allo stesso modo, la conservazione a temperatura ambiente induceva un aumento in acido ascorbico. Da tutto ciò si può evincere come frutti caratterizzati da elevate proprietà nutrizionali mostravano sfortunatamente basse caratteristiche organolettiche, soprattutto in relazione ad un'elevata riduzione della consistenza della polpa. In virtù di ciò si è cercato di studiare il fenomeno del *softening* attraverso le analisi delle attività enzimatiche delle poligalatturonasi e delle β -galattosidasi in frutti di kiwi mantenuti in cella frigorifera per due mesi. I risultati dimostravano come l'attività delle poligalatturonasi aumentasse durante la conservazione in cella frigorifera e subisse un ulteriore incremento al termine della successiva settimana a temperatura ambiente. L'attività delle β -galattosidasi, in frutti raccolti precocemente, diminuiva durante la conservazione, mentre nessuna variazione

era registrata in frutti raccolti commercialmente. Questi risultati dimostrano come l'attività dei due enzimi sia sequenziale.

In conclusione, questa ricerca ha dimostrato come alcuni tra i principali fattori di pre- e post-raccolta esercitino un'azione, direttamente ed indirettamente, nella definizione della qualità di un prodotto frutticolo.

ABSTRACT

It is well known that regular fruit and vegetable consumption is related to an appropriated and balanced nutrition, providing a protective effect against several chronic-degenerative disease, such as cancer, cardiovascular diseases, osteoporosis, atherosclerosis and cellular aging. The beneficial effects of dietary intake of fruits and vegetables on human health are due to the presence of minerals, fibre, water and, in particular, to their high content in antioxidant compounds, normally known as phytochemicals. The compounds exhibiting major antioxidant activity in plant foods are polyphenols, carotenoids, vitamin C and E. These compounds have the ability to counteract the excessive production of reactive oxygen species (ROS) constitutively generated by the normal cellular aerobic metabolism and associated to the development of chronic disease. For this reason and for the low caloric supply of fruit and vegetables, they assume the status of *functional foods*. However, the content of phytochemicals in fruits and vegetables can be influenced by various factors such as genotypic differences, pedo-climatic conditions and cultural practices, maturity and harvesting methods, and postharvest handling procedures.

The aim of this research was the evaluation of some pre- and post-harvest factors on the organoleptic and nutritional quality of two fresh fruits: peache and kiwifruit. The analysis of the main organoleptic characteristics (weight, flesh firmness, solid soluble content and titratable acidity) and the nutritional ones were carried out.

The pre and post-harvest factors analysed were:

- genotype (cultivar and rootstock)
- harvest time
- canopy position of fruits and so the different solar radiation quantity
- water management
- storage (cool and ambient storage).

The peach fruits trials were performed at the experimental farm of the Department of Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose “G. Scaramuzzi” of the University of Pisa, while the kiwifruits were supplied by the “Azienda Agricola Camillo Pacini e Figli”, a commercial kiwifruit orchard (*Actinidia deliciosa*, cv. Hayward) located at Rigoli (Pisa, Italy), where vines were trained as a free palmette.

The genotype influenced the qualitative characteristics of peach fruits, showing like the genetic background played a key role in determining the total antioxidant capacity. An important aspect was that the antioxidant capacity which was correlated with the single cultivar, but not with the cultivar group (white-flesh peaches, yellow-flesh peache, nectarines and percoche). In fact, from the obtained results, it was not possible to define a clear trend in terms of antioxidant capacity among the different cultivar group. Our results confirm that antioxidant capacity of fruits is closely related to their organic constituents. This indicates that it is not only the total content of phenols but also their chemical structure that is important in determining antioxidant capacity. In fact, the

antioxidant capacity of phenols is generally governed by their chemical structures, with their capacity increasing with the number of hydroxyl groups. From the results about the influence of rootstock, it was not possible to discern a link between rootstock vigour and total antioxidant capacity: indeed, the Mr.S. 2/5, a low vigour rootstock, grafted on Flavorcrest cv. showed the higher values of antioxidant capacity, while Ishtara, another low vigour rootstock, was characterized by the lower values. It is unclear how rootstocks exerted their influence on fruit quality but water relations, nutrition and plant growth regulators are among the most important factors involved.

The harvest time was an important pre-harvest factor able to influence the fruit quality. In the kiwifruits, the late harvest determined a significative reduction of the ascorbic acid content, the main phytochemical compound in these fruits, while no differences were recorded for antioxidant capacity in relation to the harvest time. For peach fruits, the harvest time significantly influenced both the antioxidant capacity and phytochemical content, even if it was not possible to relate the total phenol content of flesh to the maturity stage. In addition to, the harvest time determined an increase of β -carotene content in the flesh, in order to an increase of the carotenogenesis process.

The water management influenced the organoleptic and phytochemical characteristics (hydroxycinnamic acids, procyanidins and anthocyanins) of peach fruits, Suncrest cv. These results suggest how the water stress can be efficiently used to improve the fruit quality.

The storage significantly influenced the organoleptic and nutritional characteristics of kiwifruits. The results showed that the cool-storage, independently to the harvest time, negatively affected on the flesh firmness and the antioxidant capacity. A long cool-storage (5 months) determined a significant increase in the phenolic compounds, that increased further during the storage at ambient temperature for a week. In the same way, the ascorbic acid content raised after a week in ambient conditions. Our results suggest that the fruit, characterised by a high nutritional quality, showed low organoleptic characteristics, such as the flesh firmness. For this reason, the evaluation of the polygalacturonase and β -Galactosidase activity was carried out to study the softening process, in kiwifruits stored for two months at 0°C and for a week at ambient temperature. The results showed that the polygalacturonase activity increased during storage, reaching the higher values at the end of the maintenance at ambient temperature. The β -Galactosidase, in kiwifruit harvested early, diminished during storage, while no differences were observed in fruits collected at commercial harvest. These results suggest like the activity of these enzymes was sequentially, with the polygalacturonase activity being higher in the latest stage of storage. Our results evidenced as softening is a complex biological process influenced by several pre-harvest, harvest and post-harvest factors.

In conclusion, this research has been demonstrate like several pre- and post-harvest factors play a key role in determining the total quality of fruits.

INDICE

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUZIONE..... | 1 |
| 1.1 La frutta: incentivo alla salute dell'uomo | 1 |
| 1.2 La chimica alla base della capacità antiossidante | 12 |
| 1.2.1 Composti fenolici | 14 |
| 1.2.2 I flavonoidi | 18 |
| 1.2.2.1 Flavonoli | 22 |
| 1.2.2.2 Flavoni | 23 |
| 1.2.2.3 Antocianine | 23 |
| 1.2.2.4 Flavan-3-oli | 25 |
| 1.2.2.5 Flavanoni | 28 |
| 1.2.2.6 Isoflavoni | 29 |
| 1.2.3 I non flavonoidi | 30 |
| 1.2.3.1 Gli acidi fenolici | 31 |
| 1.2.3.2 Gli acidi idrossicinnamici | 33 |
| 1.2.3.3 Gli stilbeni | 34 |
| 1.3 Antiossidanti non fenolici | 35 |
| 1.3.1 Metalli essenziali (Cu, Fe, Mn, Se, Zn) ed enzimi antiossidanti | 35 |
| 1.3.2 Clorofilla | 38 |
| 1.3.3 Vitamina C | 38 |
| 1.3.4 Vitamina E (Tocoferoli) | 41 |
| 1.3.5 Le altre vitamine | 42 |
| 1.3.5.1 Vitamina B12 | 42 |
| 1.3.5.2 Acido folico | 43 |
| 1.3.5.3 Vitamina D | 44 |
| 1.3.6 Carotenoidi | 46 |
| 1.3.7 Glucosinolati | 48 |
| 1.3.8 Le fibre | 49 |
| 1.4 Concetto di qualità | 49 |
| 1.4.1 Gli attributi qualitativi della frutta | 53 |
| 1.4.1.1 Le caratteristiche organolettiche | 54 |
| 1.4.2 Principi e metodi per la valutazione della qualità | 57 |
| 1.5 Fattori che influenzano la qualità dei frutti | 60 |
| 1.5.1 Fattori ambientali | 61 |
| 1.5.2 Le pratiche colturali | 67 |
| 1.5.2.1 L'uso dei fertilizzanti | 67 |
| 1.5.2.2 Tipo di suolo | 69 |
| 1.5.2.3 Gestione dell'irrigazione | 70 |
| 1.5.2.4 Portinnesto | 71 |
| 1.5.2.5 Potatura | 72 |
| 1.5.2.6 Genotipo: selezione della specie e della cultivar | 74 |
| 1.5.2.7 Maturazione | 76 |
| 1.5.3 Post-raccolta | 79 |
| 1.5.3.1 Manipolazioni e modalità di conservazione | 79 |
| 1.5.3.2 Lavorazioni | 82 |
| 2 SCOPO DEL LAVORO | 85 |

| | |
|--|-----|
| 3 MATERIALI E METODI..... | 87 |
| 3.1 Materiale vegetale..... | 87 |
| 3.1.1 <i>Actinidia deliciosa</i> (A.Chev.) C.R. Liang & A.R. Ferguson, cv. Hayward | 87 |
| 3.1.1.1 Campionamento frutti primo anno | 87 |
| 3.1.1.2 Campionamento frutti secondo anno..... | 88 |
| 3.1.1.3 Campionamento frutti terzo anno | 89 |
| 3.1.2 <i>Prunus persica</i> L. Batsch..... | 89 |
| 3.1.2.1 Campionamento frutti primo anno | 89 |
| 3.1.2.2 Campionamento frutti secondo anno..... | 93 |
| 3.1.2.3 Campionamento frutti terzo anno | 94 |
| 3.2 Caratteristiche organolettiche..... | 96 |
| 3.2.1 Peso fresco..... | 96 |
| 3.2.2 Valutazione del sopraccalore..... | 96 |
| 3.2.3 Durezza della polpa | 96 |
| 3.2.4 Contenuto in solidi solubili | 97 |
| 3.2.5 Acidità titolabile..... | 97 |
| 3.3 Caratteristiche nutrizionali..... | 98 |
| 3.3.1 Determinazione della capacità antiossidante..... | 98 |
| 3.3.2 Determinazione del contenuto in composti fenolici..... | 100 |
| 3.3.2.1 Folin-Ciocalteau | 100 |
| 3.3.2.2 Estrazione ed analisi dei composti fenolici (derivati dell'acido idrossicinnamico ed antocianine) mediante HPLC | 102 |
| 3.3.2.3 Estrazione ed analisi delle proantocianidine attraverso HPLC..... | 102 |
| 3.3.3 Determinazione del contenuto in Vitamina C..... | 103 |
| 3.3.4 Determinazione del contenuto in pigmenti..... | 104 |
| 3.4 Enzimi coinvolti nel fenomeno del softening..... | 105 |
| 3.4.1 Estrazione e determinazione dell'attività della β -galattosidasi | 106 |
| 3.4.2 Estrazione e determinazione dell'attività delle poligalatturonasi | 106 |
| 3.5 Analisi statistica dei dati..... | 107 |
| 3.5.1 <i>Actinidia deliciosa</i> (A.Chev.) C.R. Liang & A.R. Ferguson, cv. Hayward | 107 |
| 3.5.1.1 Dati primo anno | 107 |
| 3.5.1.2 Dati secondo anno | 107 |
| 3.5.1.3 Dati terzo anno | 108 |
| 3.5.2 <i>Prunus persica</i> L. Batsch..... | 108 |
| 3.5.2.1 Dati primo anno | 108 |
| 3.5.2.2 Dati secondo anno | 108 |
| 3.5.2.3 Dati terzo anno | 109 |
| 4 RISULTATI E DISCUSSIONE: <i>Actinidia deliciosa</i> (A.Chev.) C.R. Liang & A.R. Ferguson, cv. Hayward | 110 |
| 4.1 Risultati primo anno..... | 110 |
| 4.1.1 Prima prova | 110 |
| 4.1.1.1 Capacità antiossidante | 110 |
| 4.1.1.2 Fenoli totali..... | 111 |

| | |
|--|-----|
| 4.1.1.3 Acido ascorbico | 112 |
| 4.1.1.4 Contributo percentuale dell'acido ascorbico alla capacità antiossidante | 114 |
| 4.1.2 Seconda prova | 114 |
| 4.1.2.1 Caratteristiche organolettiche | 114 |
| 4.1.2.2 Clorofilla totale ed acido ascorbico | 115 |
| 4.2 Risultati secondo anno | 117 |
| 4.2.1 Caratteristiche organolettiche | 117 |
| 4.2.2 Capacità antiossidante | 119 |
| 4.2.3 Acido ascorbico | 121 |
| 4.2.4 Fenoli totali | 122 |
| 4.2.5 Carotenoidi | 123 |
| 4.2.6 Correlazione tra i principali fitochimici e la capacità antiossidante | 125 |
| 4.3 Risultati terzo anno | 126 |
| 4.3.1 Caratteristiche organolettiche | 126 |
| 4.3.2 Capacità antiossidante | 127 |
| 4.3.3 Attività enzimatiche | 128 |
| 5 RISULTATI E DISCUSSIONE: <i>Prunus persica</i> L. Batsch | 131 |
| 5.1 Risultati primo anno | 131 |
| 5.1.1 Influenza del portinnesto, della radiazione luminosa e dell'epoca di raccolta | 131 |
| 5.1.1.1 Caratteristiche organolettiche | 131 |
| 5.1.1.2 Capacità antiossidante | 134 |
| 5.1.1.3 Correlazione tra la capacità antiossidante ed il contenuto in carotenoidi | 138 |
| 5.1.2 Effetto del genotipo | 140 |
| 5.1.2.1 Caratteristiche organolettiche | 140 |
| 5.1.2.2 Capacità antiossidante | 143 |
| 5.1.2.3 Fenoli totali | 145 |
| 5.1.2.4 Carotenoidi | 147 |
| 5.1.2.5 Acido ascorbico | 149 |
| 5.1.2.6 Correlazione tra la capacità antiossidante ed i principali fitochimici | 150 |
| 5.2 Risultati secondo anno | 151 |
| 5.2.1 Caratteristiche organolettiche | 152 |
| 5.2.2 Capacità antiossidante | 154 |
| 5.2.3 Fenoli totali | 155 |
| 5.2.4 Acido ascorbico | 157 |
| 5.2.5 β -carotene | 158 |
| 5.2.6 Correlazione tra la capacità antiossidante ed il contenuto in fitochimici | 159 |
| 5.3 Risultati terzo anno | 161 |
| 5.3.1 Potenziale idrico | 161 |
| 5.3.2 Caratteristiche organolettiche | 161 |
| 5.3.3 Composti fenolici | 164 |
| 6 CONCLUSIONI | 170 |

| | |
|---------------------|-----|
| 7 BIBLIOGRAFIA..... | 175 |
| Appendice..... | 191 |
| Pubblicazioni..... | 203 |

1. INTRODUZIONE

1.1. La frutta: un incentivo alla salute dell'uomo

Lo studio di tutte le componenti di origine alimentare che possono migliorare la sensazione di benessere del consumatore, sia dal punto fisico che psichico, è al momento uno dei settori trainanti e più promettenti di sviluppo di nuove linee di ricerca nel settore alimentare. Gli alimenti, nei Paesi sviluppati e globalizzati, non sono più visti solamente come una mera fonte di energia e macronutrienti, ma anche come veicoli di sostanze e di sensazioni che migliorano in maniera sensibile il livello di qualità della vita del consumatore medio. Il consumatore, oggi, presta sempre maggior attenzione alla qualità di ciò che mangia. A tal fine egli, non solo focalizza il suo interesse sull'aspetto esteriore del prodotto e alle sue caratteristiche igienico-sanitarie, ma anche alla qualità salutistica e nutrizionale dello stesso.

Nei Paesi maggiormente industrializzati, l'alimento viene oggi considerato parte attiva della costruzione del livello di benessere generale della popolazione, cosicché alle sue naturali caratteristiche nutrizionali e di salubrità, si affianca la possibilità che essi possano modulare dei parametri fisiologici importanti per il nostro organismo, cioè siano in grado di svolgere importanti attività funzionali. In questo senso, negli ultimi anni, il cibo, in seguito alla cosiddetta Rivoluzione Fitochimica, ha assunto lo status di "cibo funzionale", in quanto è in grado di conferire non solo valore nutritivo, ma anche, e soprattutto, benefici fisiologici e biochimici, quali la prevenzione e/o cura di una vasta gamma di patologie come cancro, malattie cardio-vascolari, processi di invecchiamento e degenerazione dei tessuti (Kaur e Kapoor, 2001; Ferrari e Torres, 2003). Tutti gli alimenti che presentano una o più sostanze con funzioni fisiologiche e biochimiche per l'uomo, sono considerati "cibi funzionali". In tal senso, l'American Dietetic Association ha prodotto un glossario contenente le principali definizioni per gli alimenti. Essi possono essere definiti:

- *Chemopreventive agents*: alimenti, composti, nutrienti o altro per i quali è stata dimostrata scientificamente una potenziale azione di inibizione nei confronti della carcinogenesi;

- *Designer food*: alimenti arricchiti con ingredienti alimentari, ma naturalmente provvisti di sostanze che prevengono le malattie. La produzione di questi alimenti coinvolge il ricorso all'ingegneria genetica;
- *Functional food*: qualsiasi alimento o ingrediente modificato in grado di apportare un benefico effetto sulla salute umana, oltre che i comuni nutrienti;
- *Pharma-food*: alimenti o nutrienti con un potenziale uso salutistico o medico, incluso la prevenzione ed il trattamento di malattie;
- *Phytochemical*: sostanze presenti in frutta e verdura che possono essere assunte giornalmente (in grammi) e che possono modulare il metabolismo dell'uomo, favorendo la prevenzione del cancro e di altre patologie;
- *Nutraceutical*: sostanze considerate alimenti che offrono benefici salutistici e medici, incluso la prevenzione e/o cura di malattie.

Uno dei messaggi più importanti della ricerca nutrizionale moderna è che una dieta ricca di frutta e verdura protegge dal cancro e numerose altre malattie, incluse le patologie cardio-vascolari ed il diabete. In questa visione, le nostre madri, quando, da bambini, ci ripetevano in continuazione "*Mangia la frutta e la verdura che fanno bene*" o l'ancor più popolare "*una mela al giorno leva il medico di turno*" avevano ragione! Eppure esse non possedevano una laurea in Scienza della Nutrizione o in Biochimica!

Il concetto di alimenti funzionali ebbe origine in Giappone. Infatti, negli anni '80, le autorità di questo Paese riconobbero la necessità di migliorare la qualità della vita, parallelamente all'incremento dell'aspettativa di vita di un numero crescente di anziani per poter controllare i costi sanitari. Fu introdotto, quindi, il concetto di alimenti che specificatamente favorivano la salute o riducevano il rischio di malattie. Gli alimenti funzionali non hanno ancora ottenuto una precisa definizione dalla legislazione europea. In generale, un alimento può essere considerato funzionale se dimostra, in maniera soddisfacente, di avere effetti positivi su una o più funzioni specifiche dell'organismo, che vadano oltre gli effetti nutrizionali, in modo tale che sia rilevante per il

miglioramento dello stato di salute e di benessere e/o per la riduzione del rischio di malattia. Esempi di alimenti funzionali sono i cibi che contengono determinati minerali, vitamine, acidi grassi o fibre alimentari, e quelli addizionati con sostanze biologicamente attive, come i principi attivi di origine vegetale o altri antiossidanti o probiotici che hanno colture vive dotate di proprietà benefiche. Parallelamente al crescente interesse per questa categoria di alimenti, sono comparsi nuovi prodotti ed è emersa la necessità di definire standard e linee guida che ne regolamentino lo sviluppo e la promozione. In Europa si è registrato un notevole aumento di interesse da parte del consumatore per il rapporto alimentazione e salute. È un fatto ampiamente riconosciuto che oggi sia possibile ridurre il rischio di malattie e conservare la propria salute ed il proprio benessere con uno stile di vita sano, che include anche un'alimentazione corretta. Le continue conferme dell'importanza di alimenti come frutta, verdura e cereali integrali nella prevenzione delle malattie e le più recenti ricerche sugli antiossidanti alimentari e sulle combinazioni di sostanze protettive presenti nei vegetali hanno favorito ulteriori sviluppi del mercato degli alimenti funzionali in Europa. Anche le tendenze demografiche ed i cambiamenti socio-economici determinano la necessità di avere a disposizione alimenti dotati di maggiori proprietà benefiche. L'aumento dell'aspettativa di vita, che ha portato alla crescita del numero di anziani ed al desiderio di miglioramento della qualità della vita, ed il conseguente aumento dei costi sanitari, hanno spinto i governi, i ricercatori, i professionisti del settore sanitario e l'industria alimentare a cercare un modo per gestire più efficacemente questi cambiamenti. Esiste già un'ampia scelta di alimenti a disposizione del consumatore moderno, ma adesso gli sforzi sono concentrati sull'identificazione di alimenti funzionali potenzialmente capaci di migliorare salute e benessere e ridurre il rischio, o ritardare, l'insorgenza di gravi patologie. Abbinati ad uno stile di vita sano, gli alimenti funzionali possono dare un contributo concreto alla salute e al benessere. Molti organismi scientifici, accademici e normativi sono impegnati attivamente nella ricerca dei fondamenti a sostegno delle proprietà delle componenti funzionali o degli alimenti che le contengono. Qualsiasi quadro normativo dovrà tutelare il consumatore da affermazioni false e fuorvianti e

soddisfare le esigenze di innovazione del settore nelle fasi di sviluppo, marketing e promozione del prodotto. In Giappone, nel 1991, è stato definito il concetto di “Foods for Specified Health Use” (FOSHU). Gli alimenti classificati come FOSHU devono essere approvati dal Ministro della Salute e da quello del Welfare, previa presentazione di evidenze esaustive e scientificamente fondate a sostegno della proprietà di tali alimenti nell’ambito di una normale dieta. Nell’Unione Europea non esiste una legislazione armonica, il che significa che vengono regolamentati a livello nazionale. In base all’attuale quadro normativo europeo, la sfida dei Paesi Membri consiste nel comunicare messaggi che evitino qualsiasi riferimento alla riduzione del rischio di malattia, anche qualora tali affermazioni siano avvalorate da prove scientifiche. La legislazione europea, in materia di etichettatura, vieta di attribuire a qualsiasi alimento la proprietà di prevenire, trattare o curare una malattia dell’uomo o di fare riferimento a tali proprietà. In assenza di una direttiva in merito, gli Stati Membri dell’Unione Europea hanno applicato varie interpretazioni della legislazione in materia di etichettatura. Allo stesso tempo, vi è ampio consenso sul fatto che tali alimenti debbano essere correttamente formulati per tutelare il consumatore, promuovere il commercio e favorire la ricerca accademica e l’innovazione dell’industria alimentare.

La stretta relazione che intercorre tra dieta ed incidenza di importanti malattie, causa di morte prevalente nei Paesi sviluppati, è ormai una tesi fortemente accettata e confermata anche da studi dell’OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità), che hanno preso in considerazione la correlazione tra alimentazione e patologie, quali il diabete, i disordini cardiovascolari, l’osteoporosi e diverse forme di tumore. Il risultato dell’indagine è stato stabilire le linee guida di una dieta in grado di diminuire l’incidenza delle malattie tipiche di questo secolo, e caratterizzata dalla riduzione di cibi ad alto contenuto di zuccheri, di sale, di grassi saturi ed alcool, e dall’aumento del consumo di frutta, verdura, farine integrali e legumi. Come tutto questo vada tradotto nella scelta quotidiana degli alimenti non è certo una questione univoca, anche perché ciascuna cultura fa riferimento ai propri cibi tradizionali. Esistono così diverse formulazioni per le piramidi alimentari che raffigurano l’esatta

composizione per una dieta sana e completa: le più note sono quella classica americana, che è particolarmente restrittiva per i dolci e i grassi, ma prevede un elevato consumo di carni, e quella basata sulla dieta mediterranea (**Figura 1.1**), nella quale le carni rosse sono relegate ad un consumo mensile, mentre viene riservato un posto particolarmente importante al consumo dell'olio d'oliva, frutta e verdura.

I frutti rappresentano alimenti funzionali eccellenti: al basso contenuto in calorie apportano un elevato quantitativo di importanti molecole ad azione antiossidante e prodotti fitochimici (Tomas-Barberan e Robins, 1997). L'aumento del consumo di frutta, verdura, cereali integrali e legumi rappresenta, per i consumatori, una strategia pratica per migliorare la loro salute e per ridurre il rischio di malattie croniche. Dal momento che frutta e verdura sono particolarmente ricche in molecole antiossidanti, una dieta abbondante in questi alimenti potrebbe aiutare a prevenire lo stress ossidativo, alla base delle principali malattie croniche e dei processi di invecchiamento. Queste considerazioni, hanno portato il National Research Council a raccomandare di consumare 5 o più porzioni di frutta e verdura al giorno. Numerosi cibi e bevande, comunemente consumati, quali tè, vino, cipolle, mirtilli, cacao, mele, sono stati riconosciuti come alimenti particolarmente benefici nella dieta, a causa del loro elevato contenuto in composti fenolici (Boyer e Liu, 2004). La maggior parte degli effetti protettivi di frutta e verdura sono stati attribuiti alla presenza di fitochimici, quali carotenoidi, flavonoidi, isoflavonoidi ed acidi fenolici, che possono svolgere differenti azioni nei confronti delle malattie.

I fitochimici, composti vegetali bioattivi, non-nutrienti e presenti in frutta, verdura, cereali e altri alimenti vegetali, sono stati correlati alla riduzione del rischio delle principali patologie croniche. È stato stimato che più di 5000 fitochimici sono stati identificati, anche se una larga percentuale rimane ancora sconosciuta (Shahidi e Naczki, 1995) e necessita di essere identificata affinché i suoi benefici salutistici siano completamente compresi.

La Piramide Alimentare nella Dieta Mediterranea



Figura 1.1 Piramide Alimentare Mediterranea.

La presenza di fitochimici in frutta ed ortaggi ha richiamato l'attenzione del mondo della ricerca, proprio in virtù del ruolo che essi svolgono nei confronti di malattie indotte dallo **stress ossidativo**, responsabile del rilascio, negli organismi aerobi, dei radicali liberi dell'ossigeno, le cosiddette ROS (Reactive Oxygen Substances). Diversi studi hanno dimostrato che i radicali liberi presenti nell'organismo umano causano un danno ossidativo a molecole quali lipidi, proteine ed acidi nucleici (Garcia-Alonso et al., 2004). Gli organismi aerobi vivono, infatti, nei confronti dell'ossigeno una condizione particolare definita "paradosso dell'ossigeno" nel senso che devono necessariamente utilizzarlo per la respirazione, ma al tempo stesso devono attrezzarsi per evitare gli effetti dannosi dell'ossigeno e di tutti i radicali che il metabolismo aerobio produce (Rice-Evans et al., 1995). Le più importanti specie reattive dell'ossigeno prodotte dal metabolismo aerobio sono:

- radicale superossido $O_2^{\cdot-}$

- radicale idrossilico **OH[•]**
- radicale idroperossilico **HOO[•]**
- radicale perossilico **ROO[•]**
- radicale alcossile **RO[•]**

Particolare attenzione viene dedicata ad una classe molto ampia di sostanze note con il nome di antiossidanti, che sono molecole organiche in grado di prevenire i danni cellulari connessi con gli stress ossidativi dovuti all'aumento dei radicali liberi ossidanti. Antiossidanti sono le sostanze presenti nei tessuti vegetali che per la loro prerogativa di ossidarsi facilmente, costituiscono un bersaglio preferenziale di ossidanti e radicali liberi e proteggono quindi le cellule, sia vegetali che animali, da stress di tipo ossidativo. Una peculiarità delle molecole antiossidanti è correlata al fatto che non diventano esse stesse radicali, in quanto sono stabili anche nella loro nuova forma chimica; agiscono perciò da “*scavenger*”. Possono essere definiti come i guardiani delle cellule poiché riescono a neutralizzare i radicali liberi prima che essi possano indurre danni all'organismo. Inoltre, gli antiossidanti giocano un ruolo importante nel preservare il cibo ritardando il deterioramento, l'irrancidimento e la perdita di colore in seguito all'ossidazione (Kaur e Kapoor, 2001).

Numerosi studi hanno dimostrato come gli antiossidanti assunti attraverso l'alimentazione possano realmente ridurre il rischio dell'insorgenza del cancro. Block et al. (1992) hanno esaminato, in circa 200 studi epidemiologici, la relazione tra il consumo di frutta e verdura e l'insorgenza di differenti tipi di cancro (al polmone, colon, seno, collo dell'utero, esofago, cavità orale, stomaco, vescica, pancreas, ovario). Questi autori, in 128 studi su 156, trovarono che il consumo di frutta e verdura svolgeva un significativo effetto di protezione. In particolare, evidenziarono in 24 su 25 studi una protezione significativa data dalla frutta e verdura nei confronti del tumore al polmone, in 26 su 30 nel tumore al pancreas e allo stomaco e in 23 casi su 28 nei confronti del cancro al colon e alla vescica. Inoltre, trovarono come la frutta fosse significativamente protettiva in relazione al cancro all'esofago, cavità orale e laringe.

Steinmetz e Potter (1996) hanno studiato la relazione che intercorre tra cancro e consumo di frutta e verdura in 206 studi epidemiologici sull'uomo ed in 22 studi su animali. Essi trovarono che l'effetto protettivo dovuto ad un grande consumo di frutta e verdura era consistente nei confronti del cancro allo stomaco, all'esofago, al polmone, alla cavità orale e alla faringe, all'endometrio, al pancreas e al colon. La verdura, ed in particolare la verdura cruda, ha dimostrato svolgere un ruolo di protezione nell'85% degli studi. Anche gli ortaggi del genere *Allium*, le carote, le crucifere, gli ortaggi verdi ed i pomodori possedevano un effetto di protezione abbastanza consistente. Gli ortaggi appartenenti al genere *Allium* (aglio, cipolla e porro) svolgono un'azione di protezione nei confronti di differenti tipi di cancro aggressivi. In particolare, è stato individuato che hanno azione protettiva nei confronti del cancro allo stomaco e colon-rettale (Fleischauer et al., 2000; Fleischauer e Arab, 2001) e del cancro alla prostata (Hsing et al., 2002).

Numerose ricerche hanno dimostrato che esiste uno stretto legame tra la presenza di fitochimici in frutta e verdura e la riduzione del rischio di malattie cardiovascolari. Hertong et al. (1993) dimostrarono come i flavonoidi assunti attraverso la dieta fossero associati ad una riduzione significativa della mortalità dovuta a malattie arteriche-coronariche e all'infarto miocardico. In aggiunta a ciò, i fitochimici presenti in frutta e verdura hanno mostrato svolgere un ruolo importante nella riduzione del processo di aggregazione delle piastrine, nella modulazione della sintesi ed assorbimento del colesterolo, nella riduzione della pressione sanguigna (Sanchez-Moreno et al., 2000).

Nei diversi studi condotti sull'effetto benefico dei fitochimici, interessante appare la lista dei possibili elementi protettivi stilata da Steinmetz e Potter (1996): ditioioni, isotiocianati, indolo-3,2-carbinolo, isoflavoni, inibitori delle proteasi, saponine, fitosteroli, inositolo esafofato, vitamina C, D-limonene, luteina, acido folico, beta carotene (e altri carotenoidi), licopene, selenio, vitamina E, flavonoidi e fibre. E' evidente come i diversi fitochimici coinvolti nella prevenzione della salute umana appartengano a classi di molecole organiche molto diverse tra loro.

Liu (2003) riportava come gli estratti di fitochimici di frutta possiedano elevati effetti antiossidanti e antiproliferativi e sottolineava come la combinazione dei differenti fitochimici in frutta e verdura sia un punto critico del potere antiossidante e dell'attività antitumorale di questi composti. Molte sostanze sono protettive in frutta ed ortaggi, cosicché l'effetto totale di protezione non è probabilmente dovuto ad un singolo nutriente o fitochimico. Infatti, la naturale combinazione dei composti ad azione fitochimica in frutta e verdura è la responsabile della loro potente attività antiossidante. Inoltre, i fitochimici provenienti da differenti tipi di vegetali possono interagire tra loro al fine di svolgere la loro azione di protezione. E' stato proposto che proprio l'azione sinergica ed additiva dei fitochimici in frutta e verdura sia responsabile delle loro attività antiossidanti ed anti-tumorali e che il beneficio di diete basate su tali alimenti sia principalmente dovuto alla complessa miscela dei fitochimici presenti nell'alimento intero (Dhu et al., 2002; Liu, 2003; Sun et al., 2002).

Gli antiossidanti dei frutti sono chimicamente differenti e sono stati trovati in diverse locazioni e forme all'interno dei tessuti e delle cellule. Il valore nutrizionale di un frutto può variare a seconda del tipo di consumo (fresco, succo, lavorato) e dal tipo di tessuto. Per esempio, le antocianine sono generalmente localizzate nella buccia dei frutti, mentre l'acido clorogenico è in concentrazioni più elevate nella polpa della mela e delle bacche.

Interessanti appaiono gli studi di Dominy e Lucas (2001) per i quali gli uomini ed alcuni primati possiedono una visione tri-cromatica del colore, cosicché essi sono in grado di distinguere il rosso dal verde. Tutti gli altri mammiferi hanno una visione di-cromatica e non possono distinguere tra i due colori. Un'ipotesi dell'evoluzione di questa capacità visiva è stata quella per la quale questa visione dei colori da parte dei primati rappresentava un vantaggio che permetteva loro di distinguere tra il rosso dei frutti ed il sottobosco verde del bosco, dato dal colore delle foglie degli alberi e del sottobosco. Oggigiorno, i colori vengono ancora usati per promuovere la scelta degli alimenti ed in particolare è stato visto come colori contrastanti rappresentino uno dei fattori chiave per la scelta del cibo (Drewnowsky, 1996). Alcuni fitochimici forniscono ai frutti ed agli

ortaggi i loro caratteristici colori ed indicano anche i loro tipici ruoli fisiologici. Tutti i composti fitochimici che assorbono la radiazione nello spettro del visibile possiedono proprietà antiossidanti. In membrane artificiali, è possibile mostrare le interazioni sinergiche della luteina e del licopene nella capacità antiossidante, così come sono ben note le interazioni antiossidanti tra la vitamina C e la vitamina E, basate sulla loro solubilità nei compartimenti idrofili ed idrofobi delle cellule (Heber, 2004). Un metodo per selezionare frutta e verdura in base al colore caratteristico del contenuto in fitochimici è un modo di tradurre la scienza della nutrizione fitochimica in pratiche linee guida di una corretta alimentazione per il consumatore (Heber e Bowerman, 2001). In tal senso, può anche aiutare i consumatori a modificare la loro dieta, includendo così quotidianamente più frutta e verdura, nella misura di una porzione per ciascuno dei setti colori (ognuno dei quali rappresenta un gruppo di fitochimici). La **Tabella 1.1** mostra i sette principali colori di frutta e verdura e sottolinea come le scelte del consumatore dipendano dal colore e dagli effetti funzionali dell'alimento.

Rosso

Mangiare frutta e verdura di colore rosso, come pomodori e derivati, fragole, cocomero, aiuta l'organismo a prevenire il cancro grazie alla presenza del licopene. Il licopene, infatti, può inibire la sintesi del colesterolo e la degradazione dell'LDL (Low Density Lipoprotein). I derivati della lavorazione del pomodoro sono più efficaci del pomodoro stesso. Il licopene, infatti, non si degrada con i trattamenti termici e nei derivati viene ulteriormente concentrato.

Rosso/Violaceo

Alimenti come i frutti di bosco (mora, lampone, mirtillo ed in generale tutte le bacche rosso/viola), uva e vino sono in grado di mantenere la funzionalità cerebrale e proteggere dalle malattie cardio-vascolari per la presenza di antocianine e polifenoli.

Arancione

Questo gruppo caratterizza quegli alimenti ricchi di carotenoidi, come carote, mango, zucca, che neutralizzano i radicali liberi responsabili del danneggiamento delle cellule e sostengono le difese antiossidanti

cellulari. I carotenoidi possono essere poi trasformati in vitamina A nel corpo umano, composto essenziale della dieta.

Tabella 1.1. I sette colori di frutta e verdura.

| Colore | Fitochimici | Frutta e Verdura |
|------------------|------------------------------|---|
| Rosso | Licopene | Pomodori e prodotti a base di pomodoro |
| Rosso/Viola | Antocianine e Polifenoli | Bacche rosse, uva, vino rosso |
| Arancione | Alfa e Beta Carotene | Carote, mango, zucca |
| Arancione/Giallo | B-criptoxantina e Flavonoidi | Melone, pesca, arancia, papaia |
| Giallo/Verde | Luteina e Zeaxantina | Spinacio, avocado |
| Verde | Glucosinolati e Indoli | Broccolo, cavolo e cavolfiore |
| Bianco/Verde | Allil-solfidi | Porro, cipolla, aglio, erba cipollina |

Arancione/Giallo

Gli alimenti che appartengono a questo gruppo, come il melone, le pesche, le arance, le albicocche, la papaia sono ricchi di flavonoidi e possono contribuire al mantenimento della salute del sistema cardiovascolare, neutralizzare i radicali liberi e promuovere le difese cellulari.

Giallo/Verde

Alimenti come lo spinacio e l'avocado che, grazie al loro contenuto in luteina e zeaxantina, possono contribuire alla salute della vista.

Verde

Broccoli, cavolo e cavolfiore possono favorire la detossificazione di composti indesiderabili, per la presenza di indoli e glucosinolati.

Bianco/Verde

Porro, cipolla, aglio, erba cipollina contengono allil-solfidi, che contribuiscono al forte odore di questi alimenti. Essi inibiscono la proliferazione cellulare delle cellule tumorali e numerosi studi

mostrano che essi possono essere utili per usi clinici *in vivo* contro l'infezione da *Helicobacter pilory* (Kiani, 2007).

1.2. La chimica alla base della capacità antiossidante: i metaboliti secondari

Le piante sintetizzano un vasto range di composti organici che vengono tradizionalmente classificati in metaboliti primari e secondari, sebbene i confini precisi tra i due gruppi possono, in alcuni casi, essere confusi. I metaboliti primari sono composti che svolgono ruoli essenziali associati alla fotosintesi, alla respirazione, alla crescita e allo sviluppo. Questi comprendono carboidrati, fitosteroli, acil-lipidi, nucleotidi, aminoacidi ed acidi organici. Altri composti, molti dei quali accumulati in concentrazioni sorprendentemente elevate in alcune specie, sono definiti metaboliti secondari. Questi sono strutturalmente estremamente differenti e molti sono distribuiti tra un numero molto limitato di specie all'interno del regno vegetale e possono essere così diagnostici in studi chemotassonomici. Infatti, a differenza dei metaboliti primari che sono ubiquitari in tutte le piante, i secondari sono il risultato del processo evolutivo, promosso dai singoli individui, atto perciò ad affermare quei metaboliti capaci di conferire alle piante uno specifico vantaggio selettivo. Si ha una notevole variabilità, quindi, da specie a specie e da varietà a varietà, cosicché è possibile affermare che la biodiversità fitochimica è strettamente connessa al metabolismo secondario, alla sua specificità ed alle condizioni in grado di stimolarlo. Sebbene ignorati per lungo tempo, la loro funzione nelle piante è da molti anni al centro dell'attenzione di innumerevoli studi, dal momento che molti di questi metaboliti secondari possono avere un ruolo chiave nella protezione delle piante da erbivori ed infezioni microbiche, agire come attrattori nei confronti di insetti impollinatori ed animali disperdenti il seme, operare come agenti allelopatici, proteggere dalle radiazioni UV ed agire come molecole segnale nella formazione dei noduli radicali fissatori di azoto. I metaboliti secondari sono anche di interesse a causa del loro uso come coloranti, fibre, colle, oli, cere, agenti responsabili dell'aroma, droghe e profumi, e sono considerati come potenziali sorgenti di nuove droghe naturali, antibiotici, insetticidi ed erbicidi (Croteau et al., 2000;

Dewick, 2002). Ma le funzioni dei metaboliti secondari vanno oltre a quelle sopra elencate. Alcuni di questi metaboliti sono costituenti protettivi degli alimenti vegetali, in particolare per la loro azione di protezione dagli stress ossidativi, e per questo loro ruolo di sostanze antiossidanti sono diventati un'importante area di ricerca nel campo della nutrizione dell'uomo. Perciò il termine "secondari" non deve trarre in inganno; infatti, il ruolo di questi composti è primario, in quanto fondamentali per la regolazione dello sviluppo dell'organismo vegetale e dei suoi rapporti con l'ambiente esterno. Da ricordare a questo proposito come le piante, essendo organismi sessili, grazie all'acquisizione, durante milioni di anni di evoluzione, della capacità di sintetizzare questi metaboliti secondari sono riuscite e riescono a sopravvivere agli attacchi dei loro predatori e agli stress abiotici presenti nell'ambiente in cui vivono.

Le condizioni nelle quali crescono e/o si coltivano le piante hanno riflessi importanti sulla qualità finale dei prodotti alimentari. Si può affermare che le condizioni che favoriscono l'accrescimento (disponibilità ottimale di acqua e nutrienti, trattamenti antiparassitari, giusta intercettazione dell'energia luminosa, ecc.) determinano un aumento delle rese produttive; tuttavia, il prodotto ottenuto può presentare caratteristiche qualitative non necessariamente ottimali, soprattutto per quanto concerne la presenza di metaboliti secondari. Al contrario, piante che vivono in ambienti sub-ottimali e, per tale ragione, si accrescono in minor misura, tendono a potenziare il metabolismo secondario ed a produrre alimenti con un maggior valore nutrizionale e salutistico.

Nei confronti degli animali, e dell'uomo in particolare, essi non sono essenziali per il benessere a breve termine, ma è dimostrato che un incremento nell'apporto di queste sostanze, attraverso l'alimentazione, nel medio e lungo termine possa avere impatti favorevoli sull'incidenza di numerose patologie come riportato precedentemente.

Sulla base delle origini biosintetiche, i fitochimici possono essere suddivisi in quattro classi:

- fenoli e polifenoli;
- terpenoidi;
- alcaloidi;

- composti contenenti zolfo.

1.2.1. I composti fenolici

I fenoli rappresentano una delle principali classi di metaboliti secondari, caratterizzati da un ampio range di strutture e funzioni, ma generalmente possiedono per lo meno un anello aromatico con uno o più gruppi idrossilici attaccati (**Figura 1.2**).

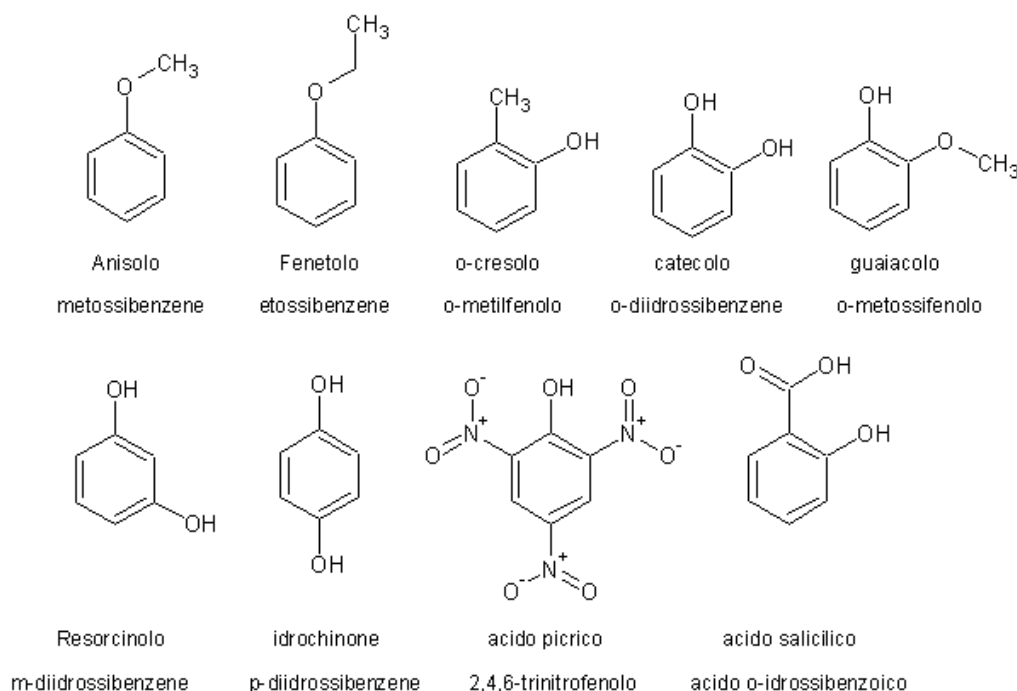


Figura 1.2. Struttura di alcuni composti fenolici.

Questa definizione non è del tutto soddisfacente, dal momento che questa classe può comprendere composti come l'estrone, un ormone sessuale femminile, che è principalmente un terpenoide. Per questa ragione, è preferibile una definizione basata sull'origine metabolica ed in questa ottica, i fenoli possono essere definiti come sostanze derivanti dalla via metabolica dello scchimato e dal metabolismo dei fenilpropanoidi (**Figura 1.3**).

Sono state riportate più di 8000 strutture fenoliche ampiamente distribuite in tutto il regno vegetale (Strack, 1997). I fenoli comprendono una grande varietà di composti: da quelli semplici, a basso peso molecolare con un singolo anello aromatico, ai tannini complessi e polifenoli derivati.

Una classificazione conveniente è quella basata sul numero e gli arrangiamenti dei loro atomi di carbonio (**Tabella 1.2**) e comunemente si trovano coniugati a zuccheri ed acidi organici. I composti fenolici possono essere classificati in flavonoidi e non flavonoidi.

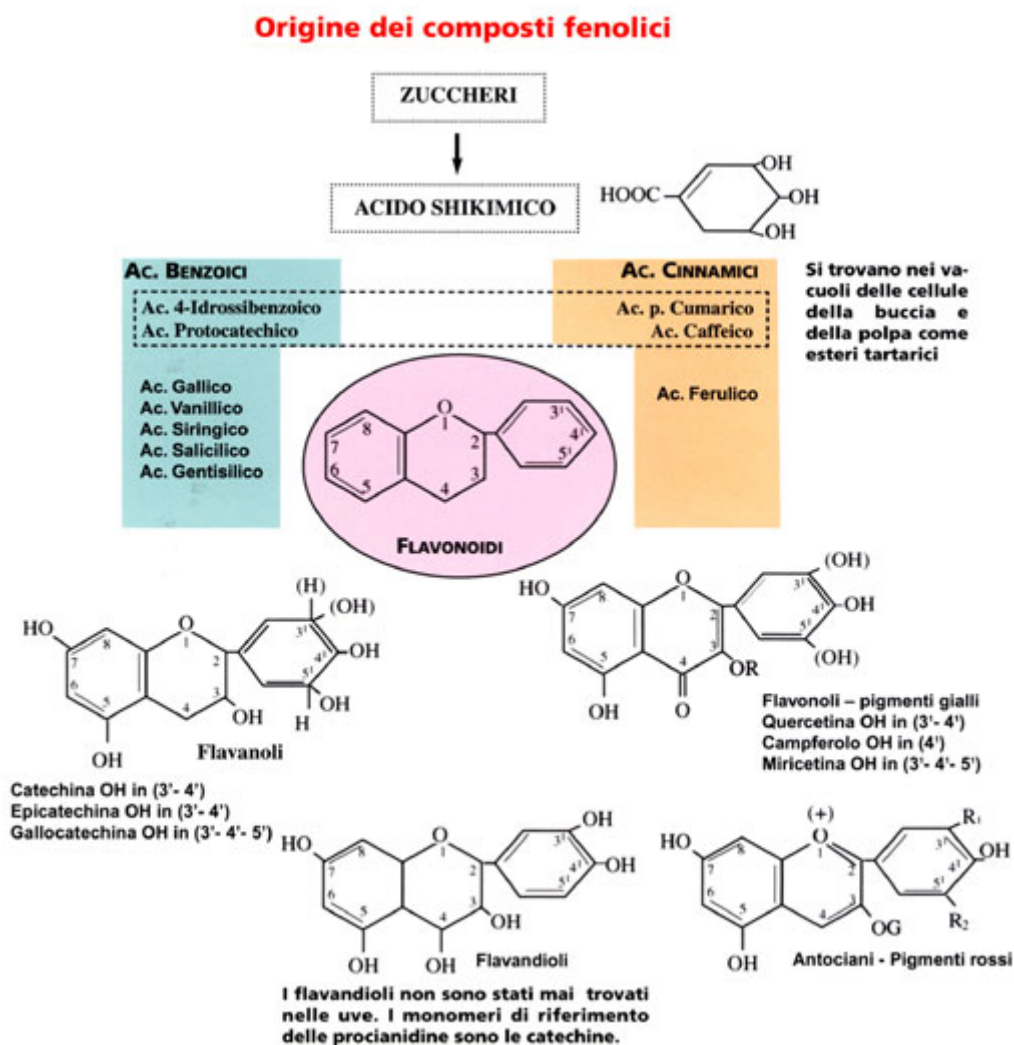


Figura 1.3. Origine metabolica dei composti fenolici.

Alcuni fenoli vegetali possono essere coinvolti nel metabolismo primario mentre altri hanno effetti sulla crescita, sono in grado di proteggere i costituenti cellulari più vulnerabili dalla foto-ossidazione operata dalle radiazioni ultraviolette in virtù del loro elevato assorbimento nell'UV e possono anche svolgere un importante ruolo di difesa delle piante dalle malattie. Il profondo interesse dei composti fenolici dei frutti è soprattutto correlato alla loro attività fisiologica, dalla quale dipende la loro

Tabella 1.2. Classificazione dei composti fenolici con esempi caratteristici dei vari frutti.

| Scheletro di base | Classificazione | Frutto | Esempi |
|--|--|---|---|
| C ₆ | Fenoli semplici Benzochinoni | | catecolo, idrochinone, resorcinolo |
| C ₆ -C ₁ | Acidi fenolici | Ampiamente distribuiti | acido <i>p</i> -idrosbenzoico, acido salicilico |
| C ₆ -C ₂ | Acidi fenilacetici | Ampiamente distribuiti | <i>p</i> -idrossifenilacetico |
| C ₆ -C ₃ | Acidi idrossicinnamici Fenilpropeni Curarine | Ampiamente distribuiti Agrumi | acido caffeico, ferulico eugenolo, miristicina umbelliferone, esculetina, scopolina eugenia |
| C ₆ -C ₄ | Cromoni Naftochinoni | Noce | Juglone |
| C ₆ -C ₁ -C ₆ | Xantoni | Mango | Juglone mangostina, mangiferina |
| C ₆ -C ₂ -C ₆ | Stilbeni Antrachinoni | Uva | resveratrolo emodina |
| C ₆ -C ₃ -C ₆ | Flavonoidi Flavoni | Agrumi | Tangeretina, nobiletina, sinensetina |
| | Flavonoli | Mela e Pera | Quercetina, canferolo |
| | Flavonol glicosidi | Ampiamente distribuiti | Rutina |
| | Flavanoni | Agrumi | Esperitina, naringenina Naringenina |
| | Flavanoni glicosidi | Pomodoro Agrumi | Esperidina, neoesperidina, naringenina, narirutina Naringenina |
| | Antocianine | Fragola Mela Arancia dolce Uva | Cianidina glicoside Glicosidi di peonidina, pelargonidina, delfinidina Glicosidi di cianidina, peonidina, delfinidina, malvidina, incluse forme acilate Cianidina glicoside |

| | | |
|--|--------------|--|
| | Pera | Cianidina 3-glicoside e |
| | Ciliegia | 3-rutinoside |
| | | Cianidina glicoside |
| | Pesca | Glicosidi di cianidina e |
| | Susina | peonidina |
| Flavanoli (catechine) | Mela | (+)-catechina, (-)- epicatechina |
| | Uva | (+)-catechina, (-)- epicatechina, (+)- gallo catechina, (-)- epigallo catechina |
| | Pera | (+)-catechina, (-)- epicatechina |
| | Pesca | (+)-catechina, (-)- epicatechina |
| Calconi | Mela | Derivati della floretina |
| | Pera | Arbutina, floretina glucoside |
| | Pomodoro | Calconaringenina |
| (C ₆ -C ₃) ₂ | Lignine | Pinoresinolo |
| (C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂ | Biflavonoidi | Agathisflavone |

attività antiossidante, la capacità di eliminare sia le ROS che gli elettrofili, l'abilità di chelare gli ioni metallici e di modulare alcune attività enzimatiche cellulari. Il ruolo dei composti fenolici della frutta come antiossidanti e come substrati per le reazioni di ossidazione è stato ampiamente studiato, così come il loro isolamento ed identificazione.

I polifenoli possiedono una struttura chimica ideale per le attività di *radical-scavenging* ed hanno mostrato essere, in vitro, antiossidanti più efficaci rispetto alle vitamine E e C (Rice-Evans et al., 1995; Rice-Evans et al., 1996). Inoltre, la propensione per la chelazione di metalli, in particolare ferro e rame, supporta il ruolo dei polifenoli come antiossidanti preservativi nel senso che possono inibire la formazione di radicali liberi metallo-catalizzati (Hudson e Lewis, 1983).

La composizione fenolica dei frutti è determinata da fattori genetici ed ambientali, ma può essere modificata attraverso reazioni ossidative che si possono verificare durante i processi di lavorazione, manipolazione e conservazione. Tuttavia, molti composti fenolici (ad esempio gli esteri dell'acido caffeico e le catechine) sono sia buoni substrati per il processo di imbrunimento sia buoni antiossidanti. Essi funzionano come antiossidante a concentrazioni relativamente basse, mentre, a concentrazioni più elevate, essi possono comportarsi come pro-antiossidanti, a seguito del loro coinvolgimento nelle reazioni di iniziazione.

L'interesse in questi composti è legato al loro coinvolgimento nella crescita e nel metabolismo delle piante e per il loro impatto nelle caratteristiche nutrizionali ed organolettiche di frutta e verdura e per la loro dimostrata attività fisiologica sulla salute dell'uomo. L'azione dei fenoli come antiossidanti è considerata benefica sia nell'alimento che nell'organismo umano; infatti, i fenoli, una volta ingeriti dall'uomo o durante la trasformazione degli alimenti, possono essere ossidati e generare altri composti o componenti cellulari e/o tissutali. In ogni modo, il loro ruolo come substrato per l'imbrunimento enzimatico o ossidativo è ristretto agli alimenti ed è indubbiamente negativo sebbene, in alcuni casi (ad esempio nei datteri, nel ribes e nell'uva sultanina) sia intenzionale ed essenziale per le caratteristiche organolettiche del prodotto.

La conoscenza della struttura chimica di questi composti nonché del loro ruolo funzionale, offre numerose opportunità, inclusa la migliore comprensione delle relazioni che possono esistere tra queste sostanze e la fisiologia e le caratteristiche organolettiche dei frutti; comprensione che potrebbe essere tradotta in più solide basi per le tecniche di lavorazione. Inoltre, tale conoscenza potrà fornire le basi per manipolare il livello di questi composti al fine di migliorare la qualità nutrizionale, organolettica e salutistica dell'alimentazione.

1.2.2. I Flavonoidi

I flavonoidi sono composti fenolici a cinque atomi di carbonio, con due anelli aromatici connessi da ponti a tre atomi di carbonio; sono i più

numerosi e sono stati trovati distribuiti in tutto il regno vegetale. Sono presenti in elevate concentrazioni nell'epidermide delle foglie e nella buccia dei frutti e possiedono importanti e svariati ruoli come metaboliti secondari. In alcuni casi, la funzione dei flavonoidi può essere ben correlata al metabolismo primario. Alcuni flavonoidi possono avere un effetto indiretto sulla crescita delle piante mentre altri possono proteggere i costituenti più vulnerabili delle cellule dai danni causati dalle radiazioni, in virtù della loro elevata capacità di assorbire nell'UV. Oltre alla protezione dalle radiazioni UV, i flavonoidi sono coinvolti in differenti processi come la pigmentazione, la stimolazione dei noduli radicali fissatori di azoto, nella resistenza di malattie (Koes et al., 1994; Pierpoint, 2000). Tuttavia, la ricerca delle funzioni di questi composti ha focalizzato l'attenzione sull'interazione che può avere luogo tra la pianta e gli altri organismi viventi ed in particolare sugli effetti dei flavonoidi sui microrganismi patogeni delle piante e sugli erbivori. Inizialmente, la letteratura conteneva svariati suggerimenti che i flavonoidi fossero coinvolti nei processi di resistenza alle malattie delle piante. Successivamente, venne individuata l'associazione tra l'aumento della sintesi di flavonoidi endogeni ed i primi stadi dell'infezione, ma la precisa natura del loro coinvolgimento nella resistenza alle malattie rimaneva sconosciuta. Lo sviluppo della teoria delle fitoalessine drasticamente alterò la situazione. Muller (1961) definì "le fitoalessine come composti prodotti dopo l'infezione sotto l'influenza di due sistemi metabolici, quello dell'ospite e quello del parassita." La maggior parte dei lavori in letteratura sono concentrati sul ruolo delle fitoalessine nella resistenza alle malattie causate da funghi e sulla relazione tra l'accumulo delle fitoalessine e la resistenza alle patologie causate da batteri (Kuc, 1994). Dalla metà degli anni '60 apparso chiaro che le fitoalessine non fossero prodotte solo in seguito ad un'infezione, ma anche in risposta a varie forme di stress fisiologico. Questa è stata un'area di intensa attività di ricerca degli ultimi decenni e Kuc (1994) ha scritto un'eccellente rassegna su questa tematica. Una risposta comune delle cellule vegetali a stress come il taglio, l'infezione o l'elicitazione è l'incorporazione, indotta dallo stress, di fenilpropanoidi all'interno della parete cellulare. Tuttavia, come affermato da Matern e Grimming (1994), il

ruolo preciso del rafforzamento della parete cellulare da parte dei composti fenolici per la protezione delle piante rimane poco definito, a seguito della limitata conoscenza analitica e della complessità dell'architettura della parete cellulare.

L'ipotesi del ruolo protettivo dei flavonoidi nei confronti delle radiazioni luminose è supportato dagli aumentati livelli di flavonoidi osservati in piante esposte a radiazione UV (Monici et al., 1994; Takeda et al., 1994). Monici et al. (1994) valutarono il ruolo del canferolo e della pelargonidina come fotoprotettori, composti scelti come rappresentativi dei flavonoli e delle antocianidine. Essi conclusero che entrambi i composti contribuivano alla protezione della pianta, ma attraverso meccanismi distinti. L'azione della pelargonidina sembrava derivare dalla sua forte azione "*radical scavenger*" mentre il canferolo poteva essere considerato come un buon schermo contro le radiazioni UV.

La biosintesi dei flavonoidi è il culmine di due vie metaboliche: quella dell'acido scichimico e quella dei fenilpropanoidi. La via dei fenilpropanoidi sintetizza i flavonoidi a partire dall'acetil-CoA carbossilato (malonil-CoA) e dall'aminoacido fenilalanina, il quale è prodotto attraverso la via dell'acido scichimico (Dewick e Haslam, 1969; Heller e Forkmann, 1993). Sotto normali condizioni di crescita, circa il 20% del carbonio fissato dalle piante viene convogliato verso la via dello scichimato, mentre circa il 2% di tutto il carbonio fissato è indirizzato dalla via dello scichimato a quella del metabolismo dei fenilpropanoidi (Markham, 1982; Herrmann, 1995). La via dei fenilpropanoidi è generalmente considerata culminare nella sintesi delle antocianine. Le ramificazioni di questa via producono numerosi altri composti, come gli idrossicinnamati, gli stilbeni, la lignina, i lignani, gli auron, i flavoni, gli isoflavonoidi così come tutti i flavonoidi, incluso i flavonoli, i tannini e le antocianine (Gerats e Martin, 1992; Haborne, 1967; Haslam, 1998).

Le principali sottoclassi dei flavonoidi sono i flavoni, flavonoli, flavan-3-oli, isoflavoni, flavanoni ed antocianine (**Figura 1.4**). Altri gruppi di flavonoidi, che in confronto sono quantitativamente componenti minori della dieta, sono i diidroflavonoli, i flavan-3,4-dioli, le cumarine, i calconi, i diidrocalconi e gli auron.

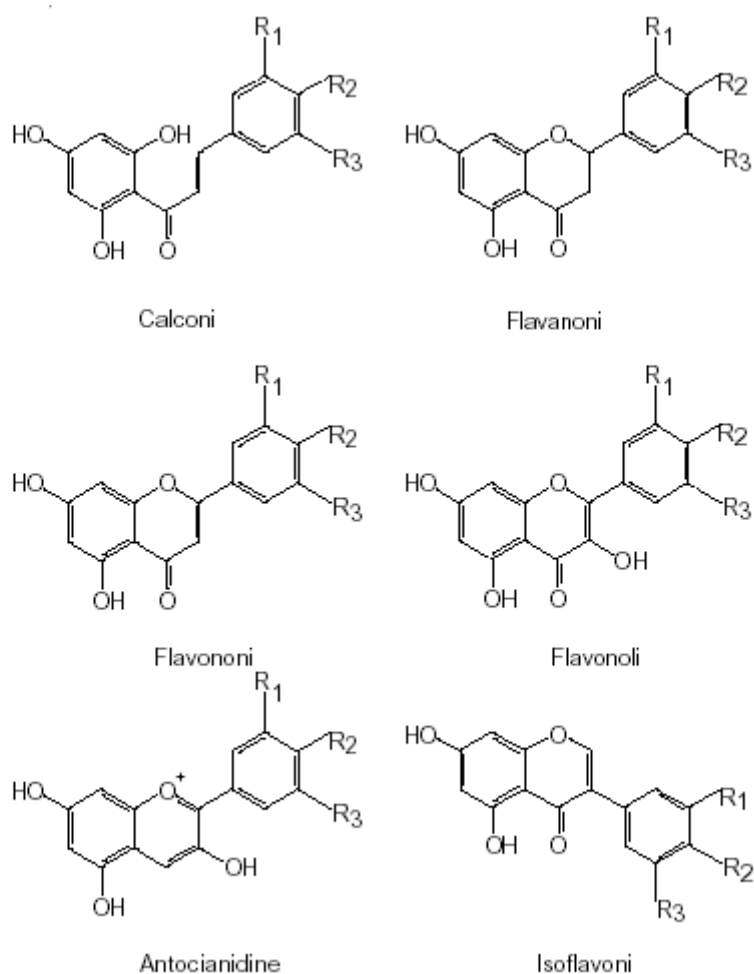


Figura 1.4. Formule di struttura di alcune classi di flavonoidi. R₁, R₂ e R₃ possono essere sostituite con H, OH e OCH₃.

Lo scheletro base dei flavonoidi può avere numerosi sostituenti; solitamente sono presenti gruppi idrossilici in posizione 4', 5 e 7. I flavonoidi spesso si presentano come glicosidi; la glicosilazione rende la molecola meno reattiva nei confronti dei radicali liberi e maggiormente idro-solubile, così da permetterne la conservazione nel vacuolo. Le posizioni comuni della glicosilazione sono: la 7 nei flavoni, isoflavoni e diidroflavoni, la 3 e la 7 nei flavonoli e diidroflavonoli, la 3 e la 5 nelle antocianidine. Lo zucchero più comunemente coinvolto nella formazione del glicoside è il glucosio, sebbene anche altri zuccheri come galattosio, ramnosio, arabinosio e xilosio possono essere coinvolti, così come disaccaridi quali il rutosio. Mentre la presenza di gruppi idrossilici e di zuccheri aumenta la solubilità in acqua dei flavonoidi, altri sostituenti come i gruppi metilici e le unità isopentiliche li rendono lipofili.

1.2.2.1. Flavonoli

I flavonoli rappresentano la sottoclasse più diffusa dei flavonoidi, in quanto si ritrovano in tutto il regno vegetale, ad eccezione delle alghe. La distribuzione e la variazione strutturale di questo gruppo di composti sono ampie e sono state ben documentate. Flavonoli come la miricetina, la quercitina, la isoramnetina ed il canferolo (**Figura 1.5**) sono tra i più comuni nei frutti e si ritrovano spesso come O-glicosidi. La coniugazione si verifica più frequentemente in posizione 3 dell'anello di carbonio, ma si possono verificare sostituzioni anche in posizione 5, 7, 4', 3' e 5' dell'anello. Sebbene il numero di agliconi sia limitato, ci sono numerosi flavonoli coniugati con più di 200 differenti zuccheri, nel caso del solo canferolo (Strack e Wray, 1992).

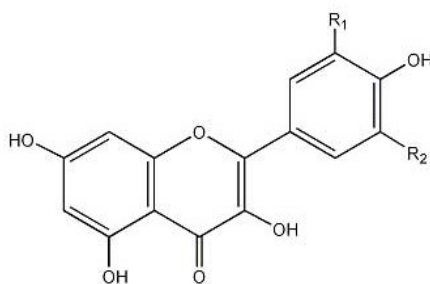


Figura 1.5. Struttura chimica dei flavonoli: quando $R_1 = H$ e $R_2 = H$ si ha il Canferolo; quando $R_1 = OH$ e $R_2 = H$ si ha la Quercitina; quando $R_1 = OH$ e $R_2 = OH$ si ha la Miricetina ed infine quando $R_1 = OCH_3$ e $R_2 = H$ si ha la Isoramnetina.

Sono disponibili svariate informazioni circa il livello di flavonoli in frutta, verdura e bevande, comunemente consumati (Hertog et al., 1992 e 1993). Tuttavia, sono state trovate differenze piuttosto ampie nelle quantità presenti in prodotti apparentemente simili; differenze imputabili principalmente a cambiamenti stagionali e a differenze varietali (Crozier et al., 1997). Anche gli effetti della lavorazione post-raccolta del prodotto possono influenzare le concentrazioni di flavonoli, anche se informazioni al riguardo sono frammentarie.

1.2.2.2. Flavoni

flavoni possiedono una relazione strutturale molto stretta con i flavonoli (vedi **Figura 1.3**). Anche se, flavoni come la luteolina e l'apigenina, hanno sostituzioni negli anelli A e C, essi mancano dell'ossigenazione nel carbonio in posizione 3 (**Figura 1.6**)

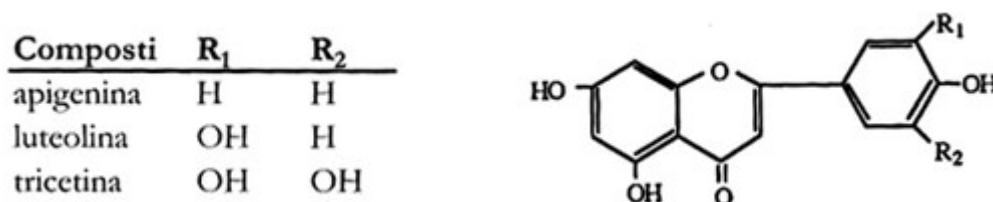


Figura 1.6. I flavoni apigenina, luteolina e trisetina.

A differenza dei flavonoli, i flavoni non sono ampiamente distribuiti nel regno vegetale. Infatti, la loro presenza è stata riportata solo nel sedano, nel prezzemolo ed in alcune erbe spontanee. In alcune specie di agrumi, invece, sono state ritrovate forme polimetossilate di flavoni, come la nobiletina e la tangeretina.

1.2.2.3 Antocianine

Le antocianine e le antocianidine sono ampiamente distribuite in tutto il regno vegetale, e sono particolarmente presenti nei tessuti dei frutti e dei fiori dove esse sono responsabili delle colorazioni rosse, blu e violacee (Rommel et al., 1992). Inoltre, esse sono state trovate anche nelle foglie, nei fusti, nei semi e nei tessuti radicali. Esse sono coinvolte nella protezione delle piante dall'eccessiva luce, attraverso l'ombreggiamento delle cellule del mesofillo fogliare e svolgono anche un importante ruolo nell'attrarre gli insetti impollinatori.

Gli agliconi antocianidine esistono in forma cationica in mezzo acido con numerose forme mesomeriche. Sei antocianidine sono ampiamente diffuse e contribuiscono comunemente alla pigmentazione dei frutti (**Figura 1.7**). La cianidina è la più comune e, in termini di frequenza di comparsa (Ishikura e Sugahara, 1979), è seguita in ordine decrescente da delfidina, peonidina, pelargonidina, petunidina e malvidina.

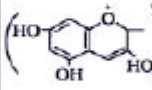
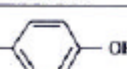
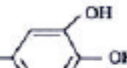
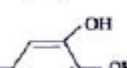
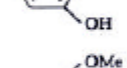
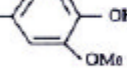
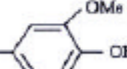
| Struttura del catione flavilio | Struttura anello B | Nome |
|---|---|---------------|
|  |  | Pelargonidina |
| |  | Cianidina |
| |  | Delphinidina |
| |  | Malvidina |
| |  | Peonidina |
| |  | Petunidina |

Figura 1.7. Struttura e denominazione delle sei principali antocianidine.

Ci sono alcuni frutti che non contengono cianidina e, in altri come la pesca o la pera, è la sola antocianidina dominante. In altri frutti ancora, come nel caso di alcune cultivar di lampone, si ritrovano due agliconi caratteristici: la cianidina e la pelargonidina.

La glicosilazione delle antocianidine avviene quasi sempre in posizione 3 con glucosio, arabinosio e galattosio. Perciò, le più comuni antocianine nei frutti sono rappresentate dai 3-monoglucosidi della cianidina, delphinidina, peonidina, pelargonidina e petunidina e dalla cianidina-3-galattoside, dalla cianidina-3-arabinoside e dalla cianidina-3-rutinoside. Tra questi pigmenti, il più abbondante è la cianidina-3-glucoside. Oltre alla glicosilazione, sono state spesso trovate nei frutti le antocianine acilate; la situazione diventa particolarmente complessa nel caso dell'uva (Lamuela-Raventos e Waterhouse, 1994; Spanos e Wrosted, 1990) dove i 3-monoglucosidi corrispondenti ai cinque agliconi delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina e malvidina possono essere tutti acetilati dall'acido acetico o dall'acido *p*-cumarico.

In **Figura 1.8** è riportata la formula di struttura del catione flavilio a cui la struttura delle antocianine è riconducibile.

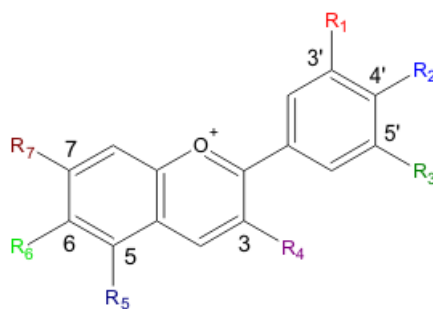


Figura 1.8. Struttura del catione flavilio.

1.2.2.4. Flavan-3-oli

I flavan-3-oli sono la più complessa sottoclasse dei flavonoidi e variano da semplici monomeri della (+) – catechina e del suo isomero (-) – epicatechina, alle proantocianidine oligomeriche e polimeriche (**Figura 1.9** e **Figura 1.10**), le quali sono anche conosciute come tannini condensati.

A differenza dei flavoni, flavonoli, isoflavoni e antocianidine che sono molecole planari, i flavan-3-oli, le proantocianidine e i flavanoni possiedono un elemento C3 saturato nell'anello C eterociclico e sono perciò non planari. I due centri chirali in posizione C2 e C3 dei flavan-3-oli producono quattro isomeri per ciascun livello di idrossilazione dell'anello B, due dei quali, la (+)-catechina e la (-)-epicatechina, sono ampiamente distribuite in natura, mentre la (-)-catechina e la (+)-epicatechina sono più rare (Clifford, 1986).

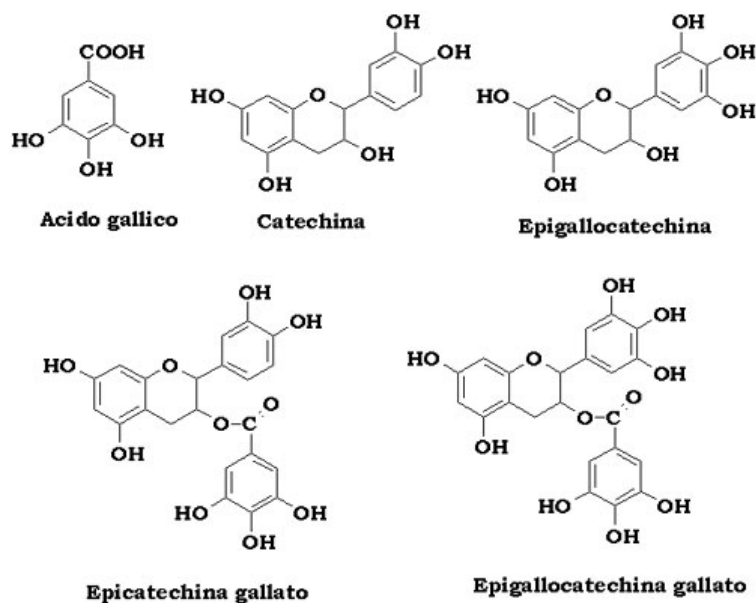


Figura 1.9. Struttura chimica dei principali flavan-3-oli.

Le proantocianidine (sinonimo di tannini condensati) sono sintetizzate come uno dei numerosi prodotti della via metabolica dei flavonoidi; in particolare, si formano da uno dei segmenti della via dei fenilpropanoidi.

I tannini sono ampiamente distribuiti nelle piante e negli alimenti di origine vegetale, in particolare nei frutti, nei semi dei legumi, nei cereali e in alcune bevande (vino, tè, cioccolata, sidro). Sono stati definiti come “composti fenolici idrosolubili, con peso molecolare compreso tra 500 e 3000 kDa e caratterizzati da speciali proprietà come l'abilità di precipitare alcaloidi, gelatina ed altre proteine (Haslam, 1989). È proprio questa capacità di precipitare le proteine, in particolare le proteine salivari nella cavità orale, che dà loro la caratteristica di astringenza, facilmente riconoscibile negli alimenti ricchi di tannini. Questa proprietà è essenziale per spiegare il loro ruolo nella protezione delle piante da patogeni (Scalbert, 1991) o impedire agli erbivori di nutrirsi di piante ricche di tannini (Feeny, 1970).

I tannini sono classicamente divisi in due gruppi. I tannini idrolizzabili sono esteri di acidi fenolici e polioli, solitamente glucosio. Gli acidi fenolici possono essere rappresentati dall'acido gallico nei gallotannini o da altri acidi derivanti dall'ossidazione dei galloil-residui negli ellagitannini (Clifford e Scalbert, 2000). Le proantocianidine, che formano il secondo gruppo di tannini, sono molto più comuni nella nostra dieta. Sono polimeri costituiti da unità elementari di flavan-3-oli. Una caratteristica chiave delle proantocianidine è che esse producono, in presenza di calore ed in mezzo acido, le antocianidine; di qui il loro nome. Strutturalmente, i tannini possiedono 12-16 gruppi fenolici e 5-7 anelli aromatici per 1000 unità di massa molecolare relativa (Haslam, 1998). Questa caratteristica, insieme con il loro alto peso molecolare, rende i tannini e polimeri fenolici, trovati in alimenti lavorati (come vino rosso o tè nero), differenti, sia nella struttura che nelle proprietà.

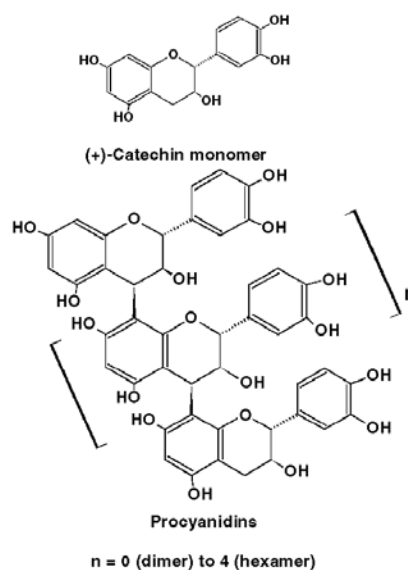


Figura 1.10. Struttura delle proantocianidine.

Molto è stato scritto negli ultimi 30 anni sugli effetti antinutritivi dei tannini in animali che ingeriscono sicuramente quantità più elevate di tannini rispetto all'uomo. Il significato di questi risultati è molto discusso e negli ultimi anni una grande enfasi è data agli effetti protettivi che le proantocianidine e altri tannini sembrano svolgere nei confronti di diverse forme di cancro e di malattie cardiovascolari.

La presenza o assenza di proantocianidine ed il grado di polimerizzazione (DP) varia da specie a specie, da tessuto a tessuto e con il tipo di metodo usato per l'estrazione. Per esempio, la media del DP di estratti preparati da corteccia proveniente da differente specie di piante variava tra 3 e 8 (Matthews et al., 1997a). In estratti di sidro di mela, il grado di polimerizzazione variava da 4 a 11, a seconda del tipo di tessuto del frutto (Guyot et al., 1998). In questi stessi campioni di mela, le proantocianidine con il più alto DP erano estratte meglio in acetone che in metanolo. Alcune proantocianidine sono resistenti all'estrazione, sia a causa della loro bassa solubilità sia a seguito di reazioni chimiche secondarie con la matrice insolubile (Matthews et al., 1997a). Proantocianidine con un più alto peso molecolare sono solitamente più fortemente assorbite sulla matrice polare rispetto a quelle a più basso peso molecolare (Prieur et al., 1994). Dalle prime delucidazioni degli anni sessanta (Weinges e Freudenberger, 1965; Weinges et al., 1968) sulla struttura base delle procianidine, più di 200 oligomeri con grado di

polimerizzazione di 5 (Balde et al., 1995; Foo e Karchesy, 1991; Nonaka et al., 1983) sono stati identificati e pienamente caratterizzati. Tuttavia, la maggior parte dei polimeri di procianidine nelle piante possiedono generalmente un più alto grado di polimerizzazione. Questi polimeri sono caratterizzati da una degradazione chimica in presenza di un nucleofilo, generalmente floroglucinolo (Foo et al., 1997; Foo e Porter, 1981) o benzilmercaptano (Matthews et al., 1997b; Prieur et al., 1994; Souquet et al., 1996). Queste metodologie permettono di caratterizzare la natura delle unità terminali ed interne di flavan-olo e la lunghezza media della catena.

Durante la conservazione post-raccolta e la lavorazione di frutta e verdura, si possono verificare alcune trasformazioni ossidative a carico delle proantocianidine, che portano alla formazione di nuovi composti che presentano caratteristiche comuni con i tannini: alto peso molecolare, numero simile di anelli fenolici per unità di massa e, la più evidente tra tutte, l'astringenza. Questi composti di derivazione dei tannini sono formati a seguito di reazioni ossidative irreversibili catalizzate da enzimi come le polifenolossidasi o da ioni metallici (Haslam, 1998). Il primo passaggio consiste nella conversione di gruppi *o*-diidrossi- (catechina) e tri-idrossi- (gallocatechina) fenilici in *o*-chinoni altamente reattivi, i quali successivamente reagiscono con differenti nucleofili come ad esempio altri fenoli, tioli o ammine così da formare un ampio range di prodotti. La formazione di tali prodotti di solito si verifica a seguito della frantumazione dei tessuti vegetali, come può avvenire, per esempio, nella preparazione delle puree di frutta o nella fermentazione delle foglie di tè o dell'uva. In queste situazioni, infatti, i compartimenti vegetali vengono distrutti ed i polifenoli del vacuolo e le ossidasi del citoplasma, inizialmente conservate separatamente, sono ora mescolate e possono divenire in contatto gli uni con le altre. I più consumati, tra questi composti simili ai tannini, sono stati ritrovati nel tè e nel vino.

1.2.2.5 Flavanoni

I flavanoni sono caratterizzati dall'assenza di un doppio legame $\Delta^{2,3}$ e dalla presenza di un centro chirale in C2. Nella maggior parte dei flavanoni naturali, l'anello C è attaccato all'anello B nella configurazione α . La

struttura dei flavanoni è altamente reattiva ed è stato riportato essere sottoposta a reazioni di idrossilazione, glicosilazione e O-metilazione. I flavanoni sono componenti della dieta, anche se presenti in piccole quantità se comparati con gli altri flavonoidi. Rappresentano comunque i flavonoidi predominanti negli agrumi. Il più comune flavanon-glicoside è l'esperetina-7-O-rutinoside (esperidina, **Figura 1.11**), trovata nella buccia degli agrumi.

La glicosilazione avviene in posizione 7, sia ad opera del rutinosio che del neoesperidosio, un disaccaride formato da una molecola di glucosio ed una di ramnosio. I flavanon-rutinoside sono senza gusto; al contrario, i flavanon neoesperidoside coniugati, come l'esperetin-7-O-neoesperidoside (neoesperidina) dell'arancio amaro (*Citrus aurantium*) e la naringenin-7-O-neoesperidoside (naringina, vedi **Figura 1.11**) della buccia del pompelmo (*Citrus paradisi*) possiedono un gusto amaro. La neoesperidina diidrocalcone è usato come dolcificante nelle birre non alcoliche. Una classificazione degli agrumi può essere fatta sulla base del flavanone predominante; nel caso dell'arancio dolce, mandarino, limone e cedro il flavanone principale è l'esperidina; la naringina, invece, predomina nel pompelmo. Dati relativi alla presenza di flavanoni in altri frutti sono frammentari.

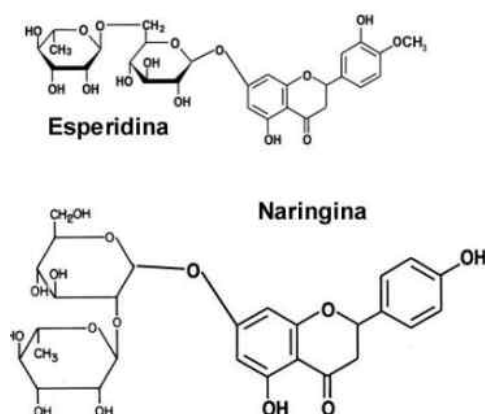


Figura 1.11. Struttura dell'esperidina e della naringina.

1.2.2.6 Isoflavoni

Gli isoflavoni sono caratterizzati dal possedere un anello B in C3 piuttosto che in posizione C2. Essi sono stati trovati quasi esclusivamente nelle

leguminose, con concentrazioni decisamente elevate nella soia (*Glycine max*) (US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 2002). Gli isoflavoni, genisteina e daidzeina (**Figura 1.12**), ed il coumestano (coumestrol) presenti nell'erba medica e nel trifoglio (*Trifolium* spp) possiedono un'attività estrogena sufficiente ad influenzare gravemente la riproduzione degli animali da pascolo, come le vacche e le pecore e per questo motivo sono denominati fito-estrogeni.

La struttura di questi isoflavonoidi è simile a quella dell'ormone steroideo estradiolo, il quale l'ovulazione. Perciò, il consumo di foraggio a base di legumi da parte degli animali deve essere ristretto oppure devono essere selezionate varietà a bassa produzione di isoflavonoidi. Questa è certamente un'area nella quale si dimostra conveniente la produzione di legumi isoflavonoidi-deficienti geneticamente modificati.

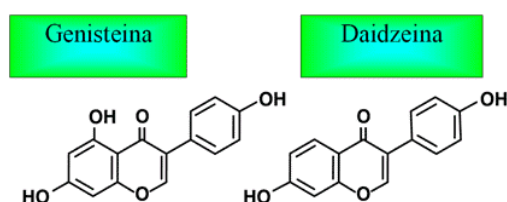


Figura 1.12. Struttura dei principali isoflavoni.

È ritenuto che il consumo di genisteina e daidzeina, presenti nei prodotti a base di soia, riduca l'incidenza del cancro alla prostata e al seno, sebbene i meccanismi d'azione siano differenti. La crescita delle cellule tumorali, nel cancro alla prostata, è indotta ed è dipendente dal testosterone androgeno, la cui produzione è soppressa dall'estradiolo. Quando l'estradiolo endogeno è insufficiente, gli isoflavoni possono abbassare i livelli di androgeno e conseguentemente inibire la crescita tumorale. Il cancro al seno dipende da un rifornimento di estrogeno, soprattutto nei primi stadi della malattia. Gli isoflavoni competono con gli estrogeni naturali, riducendo la loro disponibilità e, di conseguenza, sopprimono la crescita delle cellule tumorali.

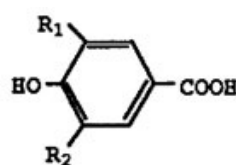
1.2.3. I non-flavonoidi.

I più importanti composti non-flavonoidi assumibili attraverso l'alimentazione sono:

- gli acidi fenolici (C₆-C₁), il principale dei quali è l'acido gallico, precursore dei tannini idrolizzabili;
- gli acidi idrossicinammici (C₆-C₃);
- gli stilbeni (C₆-C₂-C₆).

1.2.3.1 Gli acidi fenolici

Gli acidi fenolici sono anche conosciuti come idrossibenzoati (**Figura 1.13**) ed il principale rappresentante di questo gruppo è l'acido gallico. Il nome deriva dalla parola francese *galle*, che si formano sul tessuto vegetale a seguito di un attacco di un insetto o di un parassita. È stato riportato che la composizione fenolica della galla è costituita per circa il 70% di esteri dell'acido gallico (Gross, 1992).



| Composti | R ₁ | R ₂ |
|---------------------------------|------------------|------------------|
| acido <i>p</i> -idrossibenzoico | H | H |
| acido <i>p</i> -pirocatechico | H | OH |
| acido gallico | OH | OH |
| acido vanillico | H | OCH ₃ |
| acido siringico | OCH ₃ | OCH ₃ |

Figura 1.13. Principali derivati dell'acido *p*-idrossibenzoico

L'acido gallico è l'unità base dei gallotannini, mentre l'acido gallico e l'acido esaiddrossidifenilico costituiscono le subunità degli ellagitannini. I gallotannini e gli ellagitannini sono riferibili a tannini idrolizzabili e, come suggerisce il loro nome, a seguito di trattamenti con acido diluito possono essere facilmente idrolizzati, rilasciando acido gallico e/o acido ellagico (**Figura 1.14**).

I tannini condensati e quelli idrolizzabili sono in grado di legarsi e far precipitare le proteine di collagene nella pelle degli animali e questa loro proprietà viene utilizzata nell'industria conciaria per la trasformazione della pelle in cuoio. I tannini, inoltre, possono legarsi alle proteine salivari, originando in questo modo la sensazione gustativa, riconosciuta dall'uomo

come astringenza. Una leggera astringenza, infatti, migliora il gusto e la consistenza di un gran numero di alimenti e bevande, basti pensare al tè o al vino rosso. Clifford (1997) ha revisionato le sostanze responsabili dell'astringenza ed il meccanismo alla base della percezione di tale sensazione.

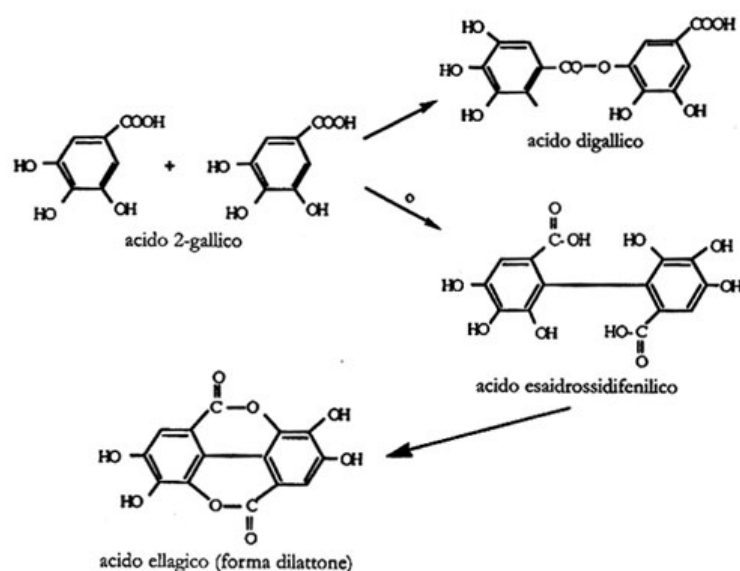


Figura 1.14. Struttura dell'acido gallico e dell'acido ellagico.

Tuttavia, molti tannini sono fortemente astringenti e questa loro caratteristica rende i tessuti vegetali che li contengono non edibili. Alcuni mammiferi come cavalli, cervi, daini, caprioli e scimmie evitano di mangiare piante con un alto contenuto in tannini. Molti frutti non maturi possiedono un contenuto molto alto di queste molecole, che sono tipicamente concentrate negli strati cellulari più esterni. Il livello di tannini e/o l'astringenza ad essi associata diminuisce quando il frutto ed i semi sono maturi. Questo fenomeno è alla base del processo evolutivistico, per cui gli animali erbivori preferiscono nutrirsi dei frutti maturi quando anche i semi sono in grado di germinare.

I tannini possono legarsi anche alle proteine alimentari nell'intestino; questo processo può avere un impatto negativo sulla nutrizione erbivora. I tannini possono infatti inattivare gli enzimi digestivi degli erbivori sia direttamente che attraverso la creazione di aggregati di tannini e proteine vegetali che sono difficili da digerire. Gli erbivori che normalmente si nutrono di vegetali ricchi di tannini sembrano mostrare

degli adattamenti a livello intestinale che permettono loro di rimuovere i tannini dai sistemi di digestione. Ad esempio, i roditori ed i conigli producono proteine salivari con un contenuto molto alto di prolina (25-45%) che possiedono un'elevata affinità per i tannini. La secrezione di queste proteine è indotta dall'ingestione di cibo con un alto contenuto in tannini e diminuisce fortemente gli effetti tossici di questi (Butler, 1989).

1.2.3.2 Gli acidi idrossicinnamici

L'acido cinnamico è un composto con formula C_6-C_3 che è convertito nel range degli idrossicinnamati, i quali, poiché sono prodotti della via metabolica dei fenilpropanoidi, vengono collettivamente denominati fenilpropanoidi. I più comuni idrossicinnamati sono l'acido *p*-cumarico, l'acido caffeico e l'acido ferulico (**Figura 1.15**), i quali spesso si accumulano sottoforma dei loro rispettivi esteri tartrati: l'acido coutarico, caftarico e fertarico.

La classe dei fenilpropanoidi rappresenta un gruppo di sostanze ampiamente diffuse nelle piante e caratterizzate dalla presenza di un anello aromatico con una catena alifatica laterale costituita da tre atomi di carbonio. Normalmente questi composti si ritrovano in forma coniugata, e la loro presenza in forma libera, in genere, è la conseguenza di un artefatto (idrolisi chimica od enzimatica) verificatosi durante l'estrazione dei tessuti vegetali.

| Composti | R ₁ | R ₂ | R ₃ |
|--------------------------|----------------|------------------|------------------|
| acido cinnamico | H | H | H |
| acido <i>p</i> -cumarico | OH | H | H |
| acido caffeico | OH | OH | H |
| acido ferulico | OH | OCH ₃ | H |
| acido sinaptico | OH | OCH ₃ | OCH ₃ |

Figura 1.15. Principali derivati dell'acido cinnamico.

Gli acidi idrossicinnamici ed i loro derivati possono esistere sia in forma *cis* che in forma *trans*, interconvertibile l'una nell'altra specialmente per effetto della luce UV: la forma prevalente in natura è quella *trans*, che è la forma più stabile. La riduzione del doppio legame alifatico degli acidi cinnamici è un fenomeno riscontrato in natura, che origina gli acidi diidrocinnamici, tra i quali sono stati identificati l'acido melilotico nelle leguminose e l'acido diidrocafeico nella barbabietola. Anche gli alcoli corrispondenti agli acidi *p*-cumarico, ferulico e sinapico sono ampiamente diffusi nelle piante, anche se a concentrazioni molto basse, in quanto costituiscono gli immediati precursori della lignina. Le cumarine, frequentemente ritrovate in natura sotto forma di β -O-D-glucosidi, sono dei composti che, da un punto di vista strutturale, possono essere considerati dei derivati lattonici dell'acido 2-idrossicinnamico, caratterizzati da un ampio pattern di ossigenazione sul nucleo benzopironico. Le cumarine più comuni nei tessuti vegetali sono l'umbelliferone, l'esculetina e la scopoletina, corrispondenti strutturalmente agli acidi *p*-cumarico, caffeico e ferulico. Una variante strutturalmente più complessa delle cumarine è rappresentata dalle furano-cumarine, presenti in natura in un'ampia varietà di strutture. Queste molecole sono molto interessanti da un punto di vista fisiologico per la loro capacità di inibire la germinazione dei semi: esse possono comportarsi da inibitori esogeni oppure da agenti allelopatici che rilasciati nel terreno inibiscono la germinazione dei semi di altre specie presenti nelle vicinanze.

1.2.3.3 Gli stilbeni

I membri della famiglia degli stilbeni, che hanno una struttura C₆-C₂-C₆, come i flavonoidi, sono composti polifenolici. Gli stilbeni sono tipicamente fitoalessine, composti cioè prodotti dalle piante in risposta all'attacco di funghi, batteri e patogeni virali. Il resveratrolo è lo stilbene più comune (**Figura 1.16**); esso può trovarsi sia nella forma *cis* che *trans* ed è presente nei tessuti vegetali principalmente come *trans*-resveratrol-3-O-glucoside. Esiste anche una famiglia di polimeri del resveratrolo, le cosiddette viniferine.

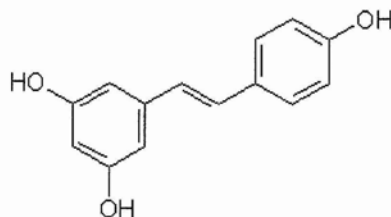


Figura 1.16. Struttura chimica del resveratrolo.

La principali fonti alimentari di stilbeni sono rappresentate dall'uva e dal suo derivato il vino, dalla soia e dai prodotti a base di arachidi. Il *trans*-resveratrolo ed il suo glucoside sono stati trovati in quantità particolarmente elevate nella pianta *Polygonum cuspidatum* (Burns et al., 2002), un'infezante estremamente dannosa che ha invaso molte aree dell'Europa e del nord America. Nella sua terra natia, l'Asia, la radice di *P. cuspidatum* viene seccata ed usata per produrre un infuso simile al tè. Questo tè è stato usato in Giappone e Cina per secoli, come rimedio tradizionale per molte malattie, comprese le cardiopatie (Kimura et al., 1985). L'agente attivo è ritenuto essere proprio il *trans*-resveratrolo ed il suo glucoside, il quale sembra contribuire agli effetti cardio-protettivi del vino rosso, mentre è stato dimostrato come il *trans*-resveratrolo inibisca l'ossidazione dell'LDL, stadio iniziale della patogenesi dell'arteriosclerosi (Soleas et al., 1997).

1.3. Antiossidanti non fenolici

1.3.1. Metalli essenziali (Cu, Fe, Mn, Se e Zn) ed enzimi antiossidanti

Numerosi metalli svolgono un ruolo fondamentale nell'origine o nel controllo delle reazioni ossidative nei tessuti biologici.

Il rame (Cu) è un componente degli enzimi citocromo ossidasi e rame/zinco-superossido dismutasi (Cu/Zn-SOD). La SOD gioca un ruolo importante come scavenger dell'O₂^{•-}, sebbene il rame può anche essere un pro-ossidante del sangue. Dall'altro lato, però, attraverso l'azione di proteine di trasporto, come le metallotionine e la cerulo-plasmina, il rame viene legato e questo evita la sua interazione con i radicali idroperossidi e di conseguenza si ha la formazione dei radicali liberi (Leung, 1998). Anche l'albumina è in grado di rimuovere il rame, i gruppi ferro-eme e l'OHCl, un

potente ossidante (Gutteridge, 1995). Al di là di questo, i soggetti animali che possiedono mutazioni a carico dell'enzima SOD sono caratterizzate da un forte stress ossidativo e da velocità più alte di apoptosi neuronale, che contribuisce ad un'intensa e progressiva neuro degenerazione. A questo proposito, è stato riconosciuto che il rilascio di Cu(I) è associato alle reazioni di catalisi ossidativa di tipo Fenton, che causano gravi danni al cervello e ad altre biomolecole (Ferrari, 2000a).

Allo stesso modo, il ferro (Fe), un elemento essenziale delle catalasi, dell'emoglobina e della mioglobina, è un pro-ossidante (attraverso le reazioni di Fenton), quando è rilasciato in eccesso (Gutteridge, 1995; Leung, 1998). I chelatori del ferro, sia naturali (albumina, aptoglobina, emopexina, lactoferrina, transferrina, urato) che sintetici (desferrioxamina) svolgono un ruolo fondamentale nel controllo delle reazioni ossidative (Gutteridge, 1995), permettendo la sopravvivenza cellulare (Ferrari, 2000a; Ferrari, 2000b). Chen ed Ahn (1998) riportarono che la quercitina, la rutina, la catechina e l'acido caffeico possedevano le più alti attività chelanti, sebbene il 2,5-Di(ter)-butil-p-cresolo (BHT), che non era un chelatore, era in grado di inibire l'ossidazione Fe-indotta più efficacemente di questi quattro composti fenolici, eccetto la quercitina.

Il selenio (Se) è un minerale caratterizzato dal possedere proprietà anti-cancro. Il centro di ricerca sul cancro dell'Arizona ha eseguito una lista delle principali funzioni del selenio nel corpo umano (Selenium Information Sheet). Queste funzioni sono:

- presenza nel sito attivo di molti enzimi, incluso la tioredoxina riduttasi, che catalizza reazioni di ossidazione-riduzione. Queste reazioni possono spingere le cellule tumorali all'apoptosi;
- componente dell'enzima antiossidante glutathione perossidasi;
- attivazione del sistema immunitario a seguito delle infezioni;
- formazione di cellule killer naturali;
- induzione degli enzimi P450 del fegato, con aumento dei meccanismi di detossificazione di alcune molecole carcinogeniche;
- inibizione delle prostaglandine, responsabili dei processi infiammatori;

- incremento della fertilità maschile, per l'aumento della motilità spermatica;
- diminuzione della velocità di crescita tumorale.

La deficienza da selenio è stata osservata in molte situazioni, come, ad esempio, in pazienti poli-traumatizzati, nelle cardio-miopatie di Keshan e Becks, nel cancro al fegato e in alcune infezioni virali (Coxsackievirus e HIV). Dal momento che il selenio partecipa alla struttura delle otto forme della glutatione perossidasi (GPx1 – intracellulare, GPx2 – gastrointestinale, GPx3 – extracellulare, GPx4 – degradante gli idroperossidi, seleno-proteine P e W, iodotironina deiodinasi e seleno-proteina mitocondriale), enzima responsabile della rimozione del radicale perossidico e dell'acqua ossigenata (H_2O_2), la sua integrazione nella dieta è importante nelle situazioni di malattia sopra citate e anche nella prevenzione del cancro e della morte delle cellule del miocardio (Duthie, 1993; Ferrari, 2000a; Gutteridge, 1995; Leung, 1998). Il selenio svolge molti ruoli biochimici, tra cui (Schrauzer, 2000):

1. riparazione di componenti danneggiate dai radicali liberi (come il DNA);
2. inibizione dell'attivazione di oncogeni;
3. induzione dell'apoptosi attraverso la proteina p53;
4. attivazione di cellule immunologiche (linfociti e cellule killer naturali).

Un altro elemento antiossidante essenziale è il manganese (Mn), componente dell'enzima Mn-SOD, che protegge i mitocondri dagli effetti tossici dei radicali liberi (Leung, 1998). Anche lo zinco (Zn), un componente delle SOD, è importante nel mantenimento dell'integrità dell'endotelio vascolare e dell'adeguata funzionalità del sistema immunitario (Henning et al., 1996). È importante notare come molte cellule possano perdere la capacità di sopravvivenza se la membrana mitocondriale viene distrutta, come nel caso di uno stress ossidativo dannoso (Ferrari, 2000a; Wyllie, 1997). Perciò, un'adeguata ingestione di tali elementi e l'uso di metalli chelanti, risultano essere molto importanti al fine di evitare indesiderabili reazioni di radicali liberi.

1.3.2. Clorofilla

La clorofilla ed i suoi derivati sono molto efficaci nel legarsi agli idrocarburi aromatici policiclici (agenti cancerogeni, derivanti dall'incompleta combustione dei combustibili), alle ammine eterocicliche (generate quando si arrostitiscono i cibi), alle aflatossine (tossine derivanti dalle muffe presenti nei cibi e responsabili del tumore al fegato) e ad altre molecole idrofobiche. È molto difficile che il complesso clorofilla-agente cancerogeno venga assorbito dal corpo, così la maggior parte di tale complesso viene espulsa attraverso le feci. L'effetto chemio-protettivo della clorofilla e dei suoi derivati è stato testato in laboratorio su colture cellulari e sugli animali (Chernomorsky et al., 1999; Sarkar et al., 1994). Ci sono quindi evidenze sugli effetti anti-cancerogeni della clorofilla. In proposito, un interessante esperimento è stato condotto a Qidong, in Cina, per valutare se la clorofillina potesse realmente ridurre i casi di cancro al fegato, il quale deriva dall'esposizione dei cibi (mais, arachidi, salsa di soia, soia fermentata) alle aflatossine. Una riduzione del 55% degli addotti aflatossina-DNA era riscontrata nei gruppi ai quali venivano somministrati 100 mg di clorofillina tre volte il giorno (Egner et al., 2001). È stato supposto che la clorofillina si legasse alla aflatossina, ma che ci fossero anche dei derivati della clorofillina rilevati nei sieri (di color verde) dei volontari che assumevano i 100 mg di clorofillina, indicando un possibile ruolo nel corpo oltre a legare gli agenti cancerogeni nell'intestino (Egner et al., 2000).

1.3.3. Vitamina C

Nella dieta, più del 90% della quantità totale di vitamina C è fornita da frutta e verdura. La vitamina C o acido ascorbico (ASA) (**Figura 1.17**) è un antiossidante idrosolubile ed è conosciuta da tempo per i benefici effetti (Benzie, 1999).

Chimicamente è il γ -lattone dell'acido 2-chetogulonico e si ossida rapidamente all'aria formando l'acido L-deidroascorbico (DHA), il quale può a sua volta subire ulteriori ossidazioni ed essere idrolizzato con formazione dell'acido dichetogulonico, biologicamente inattivo. L'acido ascorbico rappresenta la forma biologicamente attiva, ma anche il suo

prodotto di ossidazione, il DHA, possiede attività biologica in quanto può essere facilmente riconvertito a ASA. Perciò è importante misurare entrambi per quantificare la vitamina C effettivamente presente in un prodotto. In molti prodotti ortofrutticoli, il DHA rappresenta meno del 10% della quantità totale di vitamina C, ma tale percentuale tende ad aumentare durante la conservazione (Wills et al., 1984).

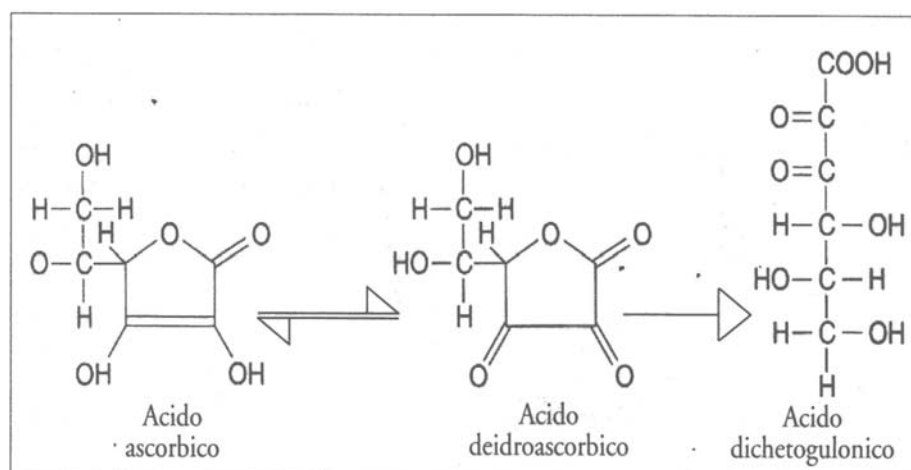


Figura 1.17. Ossidazione reversibile dell'acido ascorbico ad acido deidroascorbico ed ossidazione irreversibile di quest'ultimo ad acido dichetogulonico.

La vitamina C costituisce un sistema redox molto efficiente, in quanto donatore di elettroni e agente riducente per le ROS. Esso svolge, inoltre, un ruolo importante nella rigenerazione di altre molecole antiossidanti, come il tocoferolo ed i flavonoidi (Takahama e Oniki, 1997; Yamasaki et al., 1997). Tuttavia, in presenza di ioni ferro liberi, li può ridurre alla forma ferrosa, dannosa in quanto implicata nella catalisi di numerose reazioni ossidative. Fortunatamente è stato dimostrato che, almeno in circostanze ordinarie, in cui il ferro è sequestrato nelle proteine di trasporto e stoccaggio, la vitamina C ha un effetto nettamente antiossidante (Kaur e Kapoor, 2001). Nelle piante, l'ASA si trova localizzato negli spazi apoplastici, nel citosol, nei mitocondri, nel vacuolo e nei plastidi (cloroplasti e cromoplasti) (Kalt, 2005). Esso svolge un importante ruolo anche nella riduzione del perossido di idrogeno ad acqua e costituisce il substrato principale delle per ossidasi: In aggiunta a ciò, coopera con il glutatione nel ciclo di detossificazione dell' H_2O_2 nei cloroplasti (Soldatini, 1996). Tra i prodotti ortofrutticoli più comunemente consumati, il kiwi, la fragola, i frutti di bosco, gli agrumi ed i broccoli sono noti per il loro alto contenuto in vitamina C (somma di acido ascorbico e

deidroascorbico), mentre altri frutti come la mela, la pera, l'uva, la banana, la pesca possiedono livelli nettamente più bassi di vitamina C. Negli animali, in genere, la vitamina C svolge molteplici funzioni biologiche come il ripristino della vitamina E dai radicali tocoferossilici, prodotti durante la perossidazione dei grassi cellulari. Inoltre, stimola il metabolismo cellulare, agisce come catalizzatore nella respirazione cellulare ed è essenziale per la formazione del collagene. Accresce la resistenza alle malattie infettive e contribuisce al recupero della stanchezza fisica. La carenza di vitamina C porta ad una malattia conosciuta con il nome di scorbut, caratterizzata da emorragie, disturbi digestivi e dolori articolari. Nell'uomo, è necessario un rifornimento quotidiano di vitamina C, in quanto non viene accumulato nell'organismo. Sono comunque pochi, oltre all'uomo, gli animali che abbisognano di questa vitamina, in quanto gli altri animali la sintetizzano a partire dai glucidi, come le piante.

La vitamina C può perciò essere considerata uno dei maggiori fattori di qualità nutrizionale ed è stata inoltre dimostrata la sua attività nel ridurre il rischio dello sviluppo di patologie neoplastiche all'esofago, al pancreas ed al polmone, in quegli individui con un elevato apporto giornaliero di vitamina C, o di frutta e vegetali che la contengono (Nishina et al., 1991; Wargovich, 2000). Bassi livelli di acido ascorbico nel sangue possono essere dannosi alla salute (Fletcher et al., 2003) dal momento che la vitamina C è correlata principalmente al buon stato di salute e alla prevenzione del cancro (Lee et al., 2003).

La vitamina C è fortemente termolabile e, se paragonata con gli altri principali antiossidanti della frutta e della verdura, si hanno notevoli perdite durante le operazioni di post-raccolta. Inoltre, il contenuto in vitamina C in frutta ed ortaggi può essere influenzato da numerosi fattori quali il genotipo, le condizioni climatiche in pre-raccolta, le pratiche colturali, il livello di maturazione, i metodi di raccolta e le modalità di conservazione in post-raccolta (Lee e Kader, 2000). La sua quantità risulta essere molto variabile, anche all'interno di una stessa specie, a seconda della cultivar e del tessuto in esame. D'altra parte anche è noto come maggiore è l'intensità di luce durante la stagione di crescita, maggiore risulta essere il

contenuto di vitamina C nei tessuti. L'impiego massiccio di fertilizzanti azotati invece tende a diminuire il contenuto in vitamina C in molti frutti e vegetali. Anche la frequenza delle irrigazioni può influenzare il contenuto in vitamina C.

1.3.4. Vitamina E (tocoferoli)

La vitamina E è il più abbondante antiossidante liposolubile. Protegge la porzione lipidica della cellula, in particolar modo la membrana cellulare. In natura si ritrovano 4 tocoferoli (α , β , γ , δ) a cui corrispondono i tocotrienoli con tre doppi legami nella catena R e anch'essi vengono sintetizzati dalle piante (Papas, 1999). L' α -tocoferolo è un olio giallo chiaro, solubile nei grassi e nei solventi organici, mentre è insolubile in acqua. Termostabile, è invece molto sensibile alla luce (specialmente ai raggi UV), agli alcali ed agli ossidanti. I tocoferoli si comportano come antiossidanti, il cui potere aumenta dall' α al δ , mentre nello stesso senso, diminuisce l'attività biologica. La funzione biologica dei tocoferoli nelle piante non è chiara; indubbiamente agiscono come antiossidanti rispetto agli acidi grassi essenziali, proteggendo le porzioni lipidiche delle cellule, specialmente le membrane (Soldatini, 2000). I tocoferoli (**Figura 1.18**) sono normalmente presenti nei cloroplasti, mentre i tocotrienoli sono stati ritrovati nei tessuti verdi di cavolo, broccoli, cereali e nelle noci (Piironen et al., 1986).

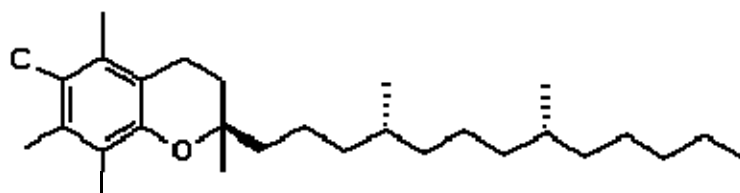


Figura 1.18. Struttura chimica dei tocoferoli.

I tocoferoli disattivano i radicali liberi reagendo con i radicali perossilici dei lipidi per produrre radicali tocoferossilici; da numerose prove è stato visto che quest'ultimi composti possono prevenire l'arteriosclerosi, in quanto inibiscono l'ossidazione dell'LDL, un fattore associato a numerose cardiopatie (Stampfer et al., 1993). La vitamina E fornisce dunque una protezione di importanza vitale contro lo stress ossidativo delle membrane cellulari, dove opera di concerto al coenzima Q e alla

vitamina C. Benché la vitamina E non mostri negli animali attività anticancerosa, un recente studio clinico riguardante la chemioprevenzione, suggerisce che dosi supplementari di vitamina E potrebbero diminuire l'insorgenza del cancro prostatico, ed uno studio epidemiologico suggerisce un ruolo proattivo della vitamina E contro il cancro al colon (Kaur e Kapoor, 2001).

Inoltre, il γ -tocoferolo può essere più efficace nell'eliminazione dei pericolosi radicali derivanti dal perossinitrito, un prodotto dei processi infiammatori (Kaur e Kapoor, 2001). I tocoferoli, in sinergia con la vitamina C, sono in grado anche di proteggere la cute dall'azione dei raggi solari UV.

Le principali fonti alimentari di vitamina E sono rappresentate da olive, noci, nocciole, frutti oleosi, lattuga, insalata e piselli.

1.3.5. Le altre vitamine

1.3.5.1. Vitamina B12

La cobalamina, o come più conosciuta Vitamina B12, è composta da una complessa struttura ad anello pirrolico con uno ione cobalto al centro (**Figura 1.19**). La vitamina B12 è sintetizzata esclusivamente dai microrganismi ed è stata trovata nel fegato degli animali legata a proteine come la metilcobalamina o la 5'-deossiadenosilcobalamina. La vitamina B12 deve essere idrolizzata dalle proteine per poter essere attiva.

Il processo di idrolisi si verifica nello stomaco ad opera degli acidi gastrici o nell'intestino attraverso la digestione con tripsina, a seguito del consumo di carni animali. La vitamina è poi legata da un fattore intrinseco, una proteina secreta dalle cellule parietali dello stomaco e portata all'ileo dove viene assorbita. Una volta assorbita, la vitamina è trasportata nel fegato attraverso il sangue, legata alla transcobalamina II.

Non è stato dimostrato che la vitamina B12 sia da considerarsi un agente anti-cancro, ma ci sono alcune prove che indicano che potrebbe essere benefica. In particolare, è stato visto che è importante la forma in cui viene somministrata la vitamina. Sono stati condotti anche studi relativi alla deficienza di vitamina B12 in ratti.

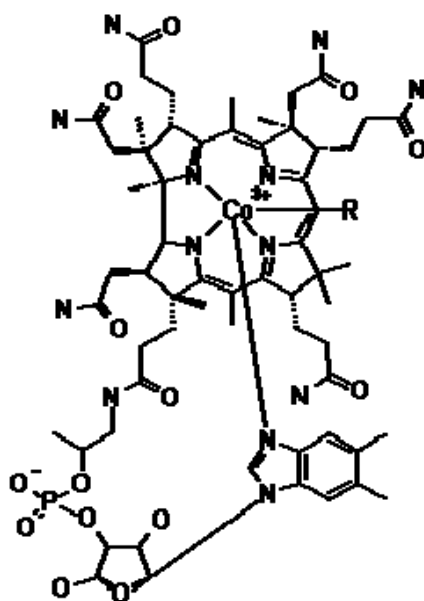


Figura 1.19. Struttura chimica della vitamina B12.

Choi et al. (2004) trovarono che il DNA della colonia di ratti, deficienti in vitamina B12, mostrava una riduzione del 35% della metilazione genomica ed un aumento del 105% nell'incorporazione dell'uracile. Entrambi i cambiamenti potrebbero aumentare il rischio di cancro. In due studi separati, è stata trovata una relazione tra un basso livello di vitamina B12 (e non deficienza) ed un rischio statisticamente più elevato di cancro al seno (Wu et al., 1999; Zhang et al., 2003). Da questi studi e da studi meccanicistici risulta come la vitamina B12 sia un importante nutriente per la stabilità genetica, la riparazione del DNA, la carcinogenesi e la terapia per la prevenzione e/o cura del cancro.

1.3.5.2 Acido Folico

L'acido folico (**Figura 1.20**) è una molecola coniugata, consistente di un anello pteridinico legato ad un acido para-aminobenzoico (PABA) che forma l'acido pteroico. L'acido folico è poi generato dalla coniugazione dell'acido glutammico con l'acido pteroico.

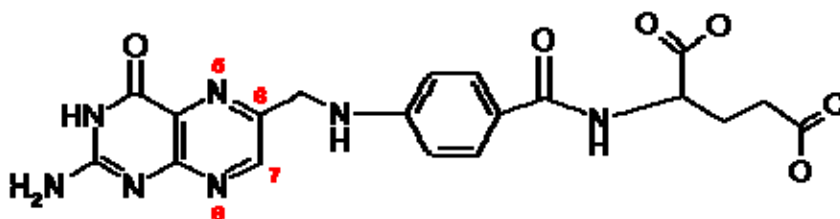


Figura 1.20. Struttura chimica dell'acido folico.

L'acido folico è la vitamina tipica degli ortaggi da foglia verde scuri. Ha un ruolo integrale nella metilazione e nella sintesi del DNA. Infatti, se l'acido folico è insufficiente, l'uracile diventa non disponibile ed è sostituito dalla timidina nel DNA; questo porta alla rottura dell'elica del DNA. Circa il 10% della popolazione degli Stati Uniti (e percentuali più alte tra le popolazioni dei Paesi più poveri) assume livelli piuttosto bassi di acido folico (Blount et al., 1997). Molti studi hanno mostrato una significativa riduzione del cancro al colon, al retto e al seno con più alti livelli di assunzione di acido folico ed i loro nutrienti correlati (vitamine B6 e B12). L'alcol è un antagonista del folato, perciò chi beve bevande alcoliche manifesta maggiormente il rischio di cancro, tipico di una dieta povera in folato. Il polimorfismo genetico (mutazione di una singola base di DNA, risultante in un differente aminoacido codificato in una proteina) nei geni della metilentetraidrofolato riduttasi e della metionina sintasi, che aumentano la quantità relativa di folato disponibile per la sintesi e riparazione del DNA, riduce il rischio di cancro al colon (Le Marchand et al., 2002; Ma et al., 1997). Cravo et al. (1998) utilizzavano 5 mg di acido folico al giorno (una dose soprafisiologica) in uno studio su 20 pazienti con polipi al colon. Essi trovarono che l'acido folico poteva invertire l'ipometilazione del DNA in 7 pazienti su 12, che aveva solo un polipo.

1.3.5.3. Vitamina D

La vitamina D (**Figura 1.21**) è prodotta principalmente a seguito dell'esposizione della pelle al sole; basti pensare all'esposizione casuale, durante l'estate, di faccia, braccia e mani al sole, che genera un'elevata quantità di vitamina D. E' stato visto che, una leggera colorazione rosea della pelle a seguito dell'esposizione al sole, equivale a 20000 IU di dose orale di vitamina D₂ (Holick, 2004). È stato stimato che 1000 IU al giorno è la quantità minima necessaria per mantenere adeguati livelli di vitamina D in assenza di sole (Holick, 2004) e quantità maggiori di 4000 IU al giorno possono essere usate con sicurezza, ricavandone benefici addizionali (Vieth et al., 2004).

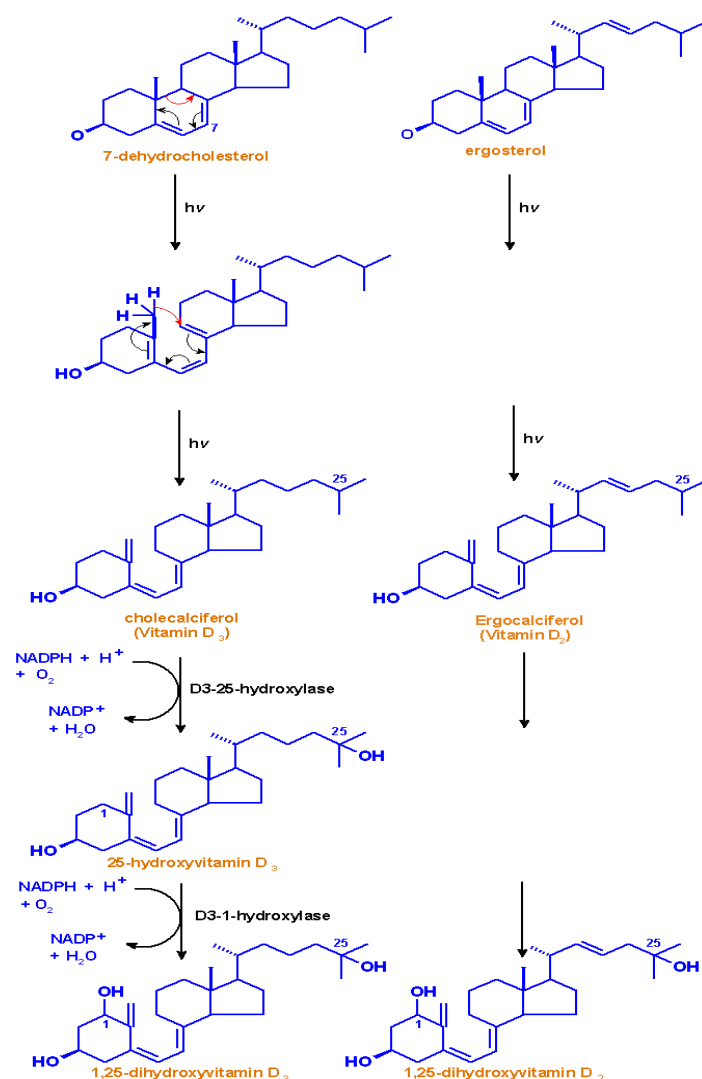


Figura 1.21. Strutture delle principali forme della vitamina D.

La concentrazione della forma ormonale attiva della vitamina D è strettamente regolata nel sangue dai reni. Questa forma attiva ormonale della vitamina D possiede forti proprietà anti-cancro. È stato scoperto che vari tipi di tessuti normali e cancerosi, incluse le cellule della prostata (Schwartz et al., 1998), i tessuti del colon (Tangpricha et al., 2001), i tessuti della mammella, dell'ovario e cervicali (Friedrich et al., 2003), i tessuti del pancreas (Schwartz et al., 2004) e le cellule del cancro al polmone (Mawer et al. 1994) hanno tutti la capacità di convertire la maggior parte della vitamina D circolante nella forma ormonale attiva. Tutto ciò grazie alla presenza in molti tessuti del corpo umano di un meccanismo deputato alla conversione delle due forme della vitamina D.

1.3.6. Carotenoidi

I carotenoidi sono pigmenti appartenenti alla grande famiglia dei terpenoidi (**Figura 1.22**); vengono definiti anche isoprenoidi perché si possono considerare derivati dall'isoprene. Sono composti insolubili in acqua ed altamente lipofili. Sono stabili in mezzo alcalino, instabili in ambiente acido e facilmente ossidabili. Nei tessuti possono essere protetti dalle ossidazioni dalla presenza dei tocoferoli e dei composti di fenolici. I carotenoidi sono molto numerosi in natura; ad oggi se ne conoscono circa 600, di cui almeno un quarto presenti nelle piante superiori.

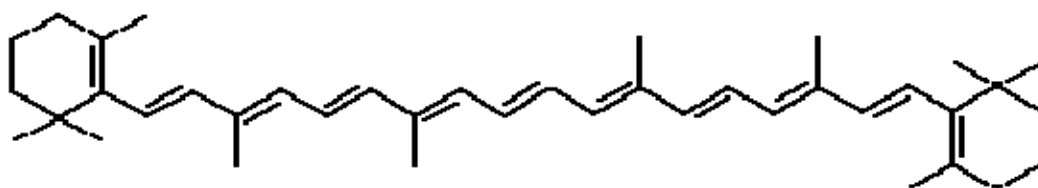


Figura 1.22. Struttura chimica dei carotenoidi (tetraterpeni).

Sono presenti praticamente in tutti i tessuti fotosintetici, nei fiori, nei frutti e nei pollini, mentre nei semi si ritrovano solamente in tracce. Le foglie delle piante erbacee sono particolarmente ricche di carotenoidi, che possono raggiungere e superare i 250 mg/100g di sostanza secca. Particolarmente ricchi risultano essere gli agrumi; nella carota il β -carotene è presente dal 45 all'80% della frazione dei carotenoidi totali. Alasavar et al. (2001), in uno studio condotto su 19 cultivar di carota, hanno trovato che alcune di esse possedevano un contenuto di β -carotene 2,2 volte superiore rispetto ad altre, con un contenuto medio di 6300 μ g/100g di peso fresco. I carotenoidi che si ritrovano nei tessuti animali, come nei salmoni, nei gamberi o nei prodotti di origine animale (tuorlo d'uovo, grasso del latte) sono sempre di origine vegetale, in quanto gli animali non sono in grado di sintetizzarli e li assumono mediante la dieta.

I carotenoidi, se si trovano sottoforma di idrocarburi, prendono il nome di caroteni, mentre se sono ossigenati vengono detti genericamente xantofille.

La biosintesi dei carotenoidi segue quella dei terpenoidi a partire dall'acido mevalonico, o, più precisamente dalla via plastidica del

piruvato/gliceraldeide-3-P. Numerosi fattori influenzano la biosintesi dei carotenoidi. Nei frutti essa dipende soprattutto dallo stadio di maturazione, oltre che dalla luce, fattore questo determinante anche nei tessuti vegetali. Infatti, piante eziolate sono anche poverissime di carotenoidi, mentre la luce determina un rapido sviluppo dei cloroplasti ed attiva la sintesi di β -carotene, luteina, violaxantina e neoxantina. La biosintesi del fitoene, il precursore dei carotenoidi, può avvenire anche al buio, ma la conversione a licopene e β -carotene avviene solo alla luce. Per questa ragione, il ruolo della luce durante la maturazione dei frutti è fondamentale e condiziona sia il contenuto di carotenoidi sia il colore finale e quindi l'aspetto stesso dei frutti.

Le funzioni dei carotenoidi nei vegetali sono molteplici ed è difficile attribuire loro un ruolo universale. Molti carotenoidi, fra i quali il β -carotene, il licopene, la luteina e la zeaxantina, esibiscono un'azione antiossidante, in particolare proteggono contro i danneggiamenti fotossidativi che possono verificarsi ad elevate intensità luminose. Negli organismi fotosintetici i carotenoidi hanno una funzione protettiva nei confronti della clorofilla, essendo presenti sui tilacoidi dei cloroplasti e nei sistemi antenna dei fotosistemi I e II. Inoltre, oltre a proteggere la clorofilla, potrebbero avere anche un'azione su altri composti porfirinici e su enzimi contenenti tali raggruppamenti (catalasi) (Soldatini, 2000).

Negli animali, il β -carotene, insieme alla vitamina E, agisce prevenendo e contrastando le reazioni ossidative che portano a malattie degenerative come cancro, malattie cardiovascolari e cataratta (Elliot, 1999). Britton (1995) ha reso noto come il β -carotene protegga i lipidi dall'auto-ossidazione ad opera dei radicali liberi: agendo da *quencers* dell'ossigeno singoletto durante l'inibizione della fotossidazione, reagendo con i radicali perossilici, promuovendo così la terminazione delle ossidazioni a catena. I carotenoidi sono stati studiati lungamente per valutare una loro possibile azione nella riduzione del rischio di cancro. In diversi studi, il β -carotene è apparso essere un agente chemio-preventivo (Hennekens et al., 1996; Omenn et al., 1996), anche se ha dimostrato di non avere effetti protettivi in dosi farmacologiche isolate. L' α -carotene ha dimostrato essere un agente protettivo più forte del β -carotene. Differenti

studi concordano che il consumo complessivo di carotenoidi svolge un'azione di protezione nei confronti del rischio di cancro piuttosto che il consumo di un singolo carotenoide. Per questo motivo, il consumo di una gran varietà di frutta e verdura rappresenta la migliore strategia anticancro piuttosto che il consumo di un singolo prodotto ortofrutticolo, ricco in uno specifico carotenoide.

Tra i diversi carotenoidi, il licopene ha dimostrato di essere particolarmente protettivo, in particolare nei confronti del cancro alla prostata. La fonte alimentare principale di licopene è rappresentata, senza dubbio, dai pomodori, con la particolarità che nei pomodori cucinati e lavorati il licopene risulta maggiormente biodisponibile rispetto a quello dei pomodori crudi. Molti studi hanno trovato un'associazione tra un'elevata quantità di licopene ed una riduzione dell'incidenza del cancro alla prostata, sebbene non tutti gli studi hanno prodotto risultati consistenti (Hsing et al., 1990; Schuurman et al., 2002).

Alcuni carotenoidi si comportano come pro-vitamine: in particolare, dal β -carotene si ottiene, nella mucosa intestinale degli animali, la vitamina A. Negli animali, i carotenoidi risultano intimamente associati al fenomeno della vista; infatti, alla base di tale processo, si trova il pigmento rodopsina formato dalla proteina opsina avente come gruppo prostetico l'11-*cis*-retinale, che si forma dalla vitamina A.

1.3.7. Glucosinolati

I glucosinolati sono un gruppo di sostanze fitochimiche che comprendono una miscela di più di 130 differenti composti largamente distribuiti soprattutto nella famiglia delle Crucifere. Negli ultimi anni sono stati oggetto di particolare interesse, sia per gli effetti fisiologici che esercitano, sia per la potenziale attività come *plant food protection agent (PFPA)*.

Da un punto di vista chimico, sono costituiti da un glicone comune, caratterizzato da un tioglucosio e da una ossima sulfonata, e da un aglicone derivato da aminoacidi, in particolare metionina, fenilalanina, tirosina e triptofano. In seguito alla rottura del tessuti, i glucosinolati contenuti nella cellula, sono rapidamente idrolizzati dalle mirosinasi (tioglucosidasi) a intermediari instabili che si riarrangiano spontaneamente

in isotiocianati, tiocianati o nitrili. Questi prodotti di idrolisi sono implicati nei meccanismi di difesa delle piante contro erbivori, funghi e batteri patogeni e sicuramente contribuiscono all'aroma (Carratù e Sanzini, 2005). L'interesse per i glucosinolati è dovuto alla correlazione riscontrata in recenti studi fra consumo di Crucifere e ridotto rischio di cancro (Shapiro, 2001; Talalay e Fahey, 2001). Essi, da soli, esibiscono una bassa bio-attività, ma la protezione da carcinogenesi e dalla progressione dei tumori appare essere correlata ad una serie di prodotti di degradazione, volatili e non, ottenuti da sistemi enzimatici, in particolare dalle mirosinasi esogene.

Gli isotiocianati derivati da glucosinolati aromatici e alifatici hanno mostrato in modelli animali una attività chemio-protettiva, in quanto agenti bloccanti la carcinogenesi chimica. In particolare il meccanismo di azione si esplica attraverso un'induzione nella fase II degli enzimi detossificanti, quale chinone riduttasi, *NADPH*-riduttasi, glutatione sulfotrasferasi e glucoriniltrasferasi e inibizione degli enzimi della fase I che attivano la carcinogenesi (Talalay e Zhang, 1996; Iqbal, 2002; Loft *et al.*, 1992).

1.3.8. Le fibre

Le fibre contenute nella frutta e nella verdura proteggono l'uomo dalle patologie colon-rettali e ad esse è associata anche l'attività antiossidante (Calixeto, 1998). Smith *et al.* (1998) hanno messo in evidenza come le differenti fibre assunte con la dieta avessero rimarchevoli effetti nella protezione da vari tipi di cancro e che le differenze sarebbero collegate alle diverse fermentazioni batteriche che si hanno nel colon e che portano alla formazione di acidi grassi a catena corta, il principale dei quali è l'acido butirrico.

1.4. Concetto di Qualità

Qualità è un termine che spesso viene associato al cibo e all'alimentazione. Questo termine è di difficile definizione anche in relazione alla mancanza e/o deficienza degli studi che negli anni passati sono stati condotti in questo settore. Un riassunto di alcuni eventi storici che hanno condotto ad oggi potrebbe essere utile per comprendere

meglio il concetto di “qualità degli alimenti”. Certamente gli studi di Pasteur tra la fine del diciannovesimo e l’inizio del ventesimo secolo introdussero un importante concetto intrinseco a quello di qualità: la sicurezza microbiologica. In realtà da questi studi alla fine della seconda guerra mondiale gli studi in merito scarseggiarono finché nel 1947, l’Organizzazione Mondiale della Sanità sanzionò una dichiarazione di validità universale, nella quale si riportava: “La salute non si riferisce soltanto all’assenza di malattia, ma include anche il completo benessere fisico, sociale e mentale.” Questa dichiarazione suonò non solo come l’annuncio di una nuova era ma sanciva anche il fine di conformare le priorità e le regole di intervento relative alla valutazione ed imposizione della qualità degli alimenti. Più tardi, il concetto di benessere crebbe rapidamente, anche se solo nei Paesi occidentali. Solo recentemente, grandi Paesi come la Cina, l’India ed il Sud America hanno iniziato ad affacciarsi al mercato globale, introducendo le loro tradizioni riguardanti nuove materie prime, nuove tecnologie di trasformazioni e nuove tendenze in materia di preparazioni gastronomiche. Tutto ciò ha determinato un aumento del libero commercio, basato sulla domanda e sull’offerta.

Oggi, le nazioni che si stanno evolvendo stanno diventando sempre di più cosicché la definizione di qualità alimentare solo in termini di salubrità e sicurezza non è sufficiente. In questo quadro, i consumatori hanno preso una nuova coscienza dell’influenza del cibo sullo stato d’animo, sull’umore, sull’efficienza al lavoro, sullo stile di vita; di conseguenza si sono venuti a determinare nuovi compromessi tra bisogni edonistici, bisogni alimentari e garanzie di sicurezza (Giusti et al., 2007). Dall’altro lato, grandi e piccoli produttori stanno domandando maggior protezionismo dalle organizzazioni soprannazionali, soprattutto laddove la tracciabilità e la stretta osservazione delle linee-guida ufficiali di produzione richiedono un maggior sforzo economico.

La globalizzazione del mercato ha scaturito una nuova consapevolezza tra gli esperti, determinando la tendenza a riferirsi alla qualità degli alimenti in termini di “qualità totale degli alimenti”, la cosiddetta “*Total Food Quality*” (Giusti et al., 2007). E’ possibile definire

questo nuovo concetto raggruppando e classificando i fattori base che costituiscono la qualità totale nel seguente modo:

- attributi organolettici e sensoriali, come colore, aspetto, tessitura, consistenza, succosità, gusto, astringenza ed aroma;
- sicurezza legata all'assenza di composti tossici normalmente contenuti nei cibi, di micotossine, di contaminanti, patogeni e di microrganismi tossigeni;
- valore nutrizionale e cioè il contenuto in calorie e composizione in proteine, aminoacidi, vitamine e minerali, così come in non-nutrienti con alta attività biologica (antiossidanti), composti derivanti dalle lavorazioni, di gestibilità e biodisponibilità;
- proprietà funzionali legate alla facilità di uso dei differenti ingredienti (principalmente di interesse industriale) con riguardo alla lavorazione e trasformazione;
- servizio e stabilità e cioè la resistenza a rapidi deterioramenti (è necessario prendere in considerazione le lavorazioni a cui gli alimenti sono sottoposti, la conservazione, il trasporto e le condizioni di *shelf-life*);
- salute legata alla capacità di alcuni componenti alimentari di esercitare effetti benefici sulla salute del consumatore (probiotici, batteri, prebiotici, oligosaccaridi, flavonoidi, carotenoidi, vitamine e peptidi bioattivi);
- fattori psicologici connessi alla convenienza, al prezzo, alla facilità nell'uso, all'originalità.

In altre parole, la qualità totale è la combinazione di proprietà o attributi che potrebbero costituire una sorta di “certificato di accettabilità”. Le due parti contendenti, da un lato la scienza e la tecnologia e dall'altro il consumatore, contribuiscono in ugual modo a conferire il grado finale di accettabilità del prodotto. Queste due entità dovrebbero unire le forze per controllare gli standards di salute delle materie prime, dei processi di trasformazione e la piena soddisfazione dei bisogni individuali e del senso di piacevolezza. Perciò, la promozione degli standards della qualità totale è accettabile solo se i nuovi criteri incontrano l'approvazione di entrambe le parti in gioco.

Concludendo, si può affermare che la qualità totale è:

- in parte un concetto oggettivo: si stanno valutando proprietà come la qualità nutrizionale, la sicurezza d'uso, la *shelf-life*, etc. che non sono strettamente correlate alle caratteristiche sensoriali del prodotto percepite dall'uomo. In ogni caso, la definizione e la stima degli standards della qualità totale non sono solo legati alle materie prime impiegate, ma anche alle lavorazioni tecnologiche e alle preparazioni gastronomiche.
- In parte un concetto soggettivo: il consumatore è il principale strumento di valutazione delle proprietà sensoriali del prodotto, immediatamente percepite attraverso i sensi.

In particolare, i consumatori danno importanza, nel momento della scelta e dell'acquisto, alle proprietà sensoriali dei cibi. I cibi freschi contengono un complesso miscuglio di composti (zuccheri semplici e complessi, antocianine, flavonoidi, acidi organici, composti volatili, etc.) i quali attribuiscono la tessitura, il colore, il gusto e gli aromi caratteristici. Queste proprietà sensoriali sono spesso rimosse durante i processi di lavorazione e trasformazione dei cibi, per soddisfare i bisogni di una larga scala di distribuzione e la *shelf-life* dei prodotti, sia crudi che cucinati (Noth, 1989; Patsias et al., 2006). Infatti, molto spesso, la lunghezza della conservazione di alcuni prodotti, come nel caso di frutta e verdura, può risultare nella perdita del gusto, dell'aroma e del valore nutrizionale (perdita di vitamine, minerali ed antiossidanti). Per esempio, le mele raccolte, durante la conservazione, nel tempo mostrano una riduzione dell'attività respiratoria ed un aumento della produzione di etilene. Questa procedura può promuovere la conservazione del prodotto, ma, allo stesso tempo, può ritardare e ridurre la sintesi delle molecole responsabili dell'aroma del frutto (Jun e Bangerth, 1996).

Lo sviluppo di tecniche agronomiche avanzate, di nuove metodologie di miglioramento genetico e di conservazione ha contribuito all'enorme disponibilità e diffusione dei prodotti alimentari, così che per molti di essi, in particolare per frutta e verdura, è ora possibile eliminare i limiti stagionali. A questo proposito, i consumatori stanno diventando sempre più attenti alla perdita di qualità dei prodotti lavorati o conservati,

non solo da un punto di vista della qualità sensoriale, ma anche, e soprattutto, da quella nutrizionale.

1.4.1. Gli attributi qualitativi della frutta

Gli attributi legati all'evoluzione del concetto di qualità interessano complessivamente i seguenti aspetti:

- ❖ **Commerciale:** comprende tutti quei parametri che rendono il prodotto facilmente vendibile. Trattasi, pertanto, di caratteri di tipo visivo, quali forma, colore, uniformità e calibro. Presso i punti vendita, i consumatori sono naturalmente orientati all'acquisto di frutti dall'aspetto perfetto. La forma, pertanto, deve essere regolare, il colore della buccia intenso ed uniforme, il calibro quanto più grosso possibile e la superficie del frutto deve essere priva di alterazioni fisiologiche e patologiche. Vengono così scartati prodotti esteriormente difettati, troppo piccoli, umbonati o scatolati, anche se in possesso di ottime caratteristiche nutrizionali.
- ❖ **Organolettico:** riguarda tutte le proprietà di un prodotto percepibili dai nostri sensi e quindi il sapore, l'odore e le sensazioni visive. Nel caso della frutta, grande importanza hanno il gusto (determinato essenzialmente dal contenuto in zuccheri ed acidi organici), la consistenza della polpa (direttamente proporzionale alla coesione tra le cellule e allo spessore delle membrane cellulari), l'odore e l'aroma (determinato da una serie di composti chimici di cui molti sono stati identificati). Tra le caratteristiche organolettiche più importanti ai fini dell'accettabilità da parte del consumatore si ritrova la succosità, dalla quale dipende anche la maneggevolezza e la serbevolezza dei frutti.
- ❖ **Nutrizionale:** consta di caratteristiche non direttamente riscontrabili dal consumatore e, di conseguenza, difficili da valutare al momento dell'acquisto. È dato dall'insieme di tutte le molecole ad azione antiossidante e protettiva, anche non nutrizionali, presenti nei frutti. L'interesse per la presenza di queste sostanze è in rapido aumento vista la crescente attenzione del consumatore occidentale in relazione alla qualità della propria alimentazione.

- ❖ **Sanitario:** la frutta, come del resto tutti i prodotti destinati all'alimentazione umana, non deve recare alcun danno alla salute. Ciò è possibile se sono assenti le sostanze indesiderate, più o meno tossiche, come i residui di fitofarmaci, concimi chimici, pesticidi, etc. Al riguardo, esistono opportune normative che stabiliscono i residui minimi ammissibili nelle produzioni per le diverse sostanze utilizzate.

1.4.1.1. Le caratteristiche organolettiche

Con il termine di caratteristiche organolettiche si intende il complesso delle proprietà apprezzabili sensorialmente e che, interagendo tra di loro, determinano l'accettabilità del prodotto. Una classificazione ricorrente suddivide le caratteristiche organolettiche in tre gruppi principali: aspetto, sapore e consistenza.

Aspetto. Comprende la pezzatura, la forma, il colore, la morbidezza/compattezza, la brillantezza, i difetti interni ed esterni. Questa caratteristica determina la prima impressione che il consumatore riceve; vari studi indicano che circa il 40% dei consumatori decide cosa comprare solo in funzione di un giudizio visivo che percepisce direttamente al momento dell'acquisto. La forma è una delle sottocomponenti più facilmente percepibili, sebbene non sia un aspetto decisivo della qualità, eccetto che nel caso di deformazioni o di altri difetti morfologici.

L'uniformità è un concetto applicato a tutte le componenti della qualità (pezzatura, forma, colore, stadio di maturazione, compattezza) ed è fondamentale per il consumatore in quanto indica che il prodotto è già stato scelto e selezionato in categorie, in base agli standard ufficiali di qualità. In molti casi, i difetti esterni ed interni non inficiano la bontà del prodotto, ma il consumatore è generalmente portato a rifiutarlo, e per tale motivo, l'assenza di difetti diviene una delle principali componenti dell'aspetto e di primaria importanza ai fini dell'acquisto.

La freschezza e la maturità sono componenti fondamentali dell'aspetto e sono responsabili del gusto e dell'aroma nel momento in cui il prodotto viene consumato. Freschezza significa consumare un prodotto in tempi estremamente ravvicinati al momento della raccolta, mentre

quando parliamo di maturità ci riferiamo al punto di massima qualità edibile che, in molti casi, è raggiunta sul luogo della vendita o al momento del consumo. Per definire i parametri di freschezza e maturità, l'uniformità e l'intensità del colore sono gli aspetti esteriori più facilmente valutati dal consumatore. Ad esempio, nei prodotti orticoli da foglia, un verde intenso è sinonimo di freschezza, mentre un verde pallido o giallo di senescenza. Il colore è anche un indicatore della maturazione dei frutti ed è particolarmente importante in quei frutti dove non si verificano sostanziali cambiamenti dopo la raccolta (frutti non climaterici come gli agrumi, i peperoni, etc.). Nei frutti climaterici, invece, il colore è meno decisivo ed indica sostanzialmente il grado di maturazione, come ad esempio nel pomodoro, nella pera, nella banana, nella pesca, etc.

La pezzatura è uno dei parametri decisivi per la scelta dell'epoca di raccolta ed, in molti casi, è direttamente associato ad altri aspetti come il sapore o la tessitura.

Sapore. È formato da dolcezza, asprezza (acidità), astringenza, amarezza, aroma (componenti volatili), odori e sapori sgradevoli. Attraverso la combinazione delle sensazioni ricevute mediante i sensi del gusto e dell'olfatto, è possibile definire il sapore di un prodotto. Benché queste sensazioni possono essere perfettamente separate le une dalle altre, i loro sentori sono molto vicini, perciò quando portiamo un alimento vicino alla bocca, con la masticazione, percepiamo l'aroma che scaturisce dalla frantumazione del prodotto. Nella frutta e nella verdura il gusto viene normalmente espresso dalla combinazione del "dolce" e dell'"agro", attributi che danno un'indicazione della maturità ed edibilità del prodotto.

Il contenuto in solidi solubili è un buon parametro per la stima del contenuto totale in zuccheri e, per tale motivo, la scelta dell'epoca di raccolta di molti frutti è valutata in base ad esso.

Gli acidi organici come il citrico, il malico, l'ossalico ed il tartarico sono altri importanti componenti del gusto, in particolar modo se in relazione con i solidi solubili. Dal momento che il frutto matura, il contenuto in acidi organici gradualmente diminuisce e, conseguentemente, il loro rapporto con i solidi solubili aumenta. L'acidità titolabile o l'acidità libera totale è la forma più idonea per esprimere il

contenuto in acidi organici. Il rapporto solidi solubili/acidità titolabile rappresenta un importante indice di valutazione della qualità di un frutto.

L'astringenza ed il sapore amaro sono dovuti a diversi composti organici; in particolare, l'astringenza è tipicamente indotta dai tannini, mentre l'amaro è imputabile alla presenza del flavonoide naringenina. Questi aspetti, normalmente, costituiscono uno svantaggio, tanto che si cerca di eliminarli attraverso programmi di miglioramento genetico, fatta eccezione per alcuni prodotti ortofrutticoli, nei quali assumono un importante valore per la qualità dei frutti o delle porzioni edibili. Ci sono, inoltre, composti organici specifici che caratterizzano alcune specie appartenenti a famiglie botaniche o, addirittura, cultivar e/o cloni di specie.

La stretta correlazione tra il contenuto in sostanza secca e le caratteristiche organolettiche viene sfruttata dall'industria: in generale, un alto contenuto in solidi solubili determina un elevato sapore ed un'elevata attitudine alla trasformazione. Per gli ortofrutticoli freschi, destinati al mercato, comunque, la sostanza secca non è usata come indicatore dell'epoca ottimale di raccolta e/o per la qualità organolettica. Unica eccezione è data dall'avocado, nel quale vi è una stretta correlazione tra sostanza secca e contenuto in olio.

L'aroma di frutta e verdura è determinato dalla percezione, da parte del consumatore, di numerose sostanze volatili. Tuttavia, la refrigerazione dei frutti durante la post-raccolta determina generalmente un minor rilascio di composti volatili, in maniera proporzionale alla diminuzione della temperatura di conservazione.

Consistenza. Comprende la compattezza, la durezza, la sofficietà, la croccantezza, la succosità, la farinosità, la granulosità e la fibrosità. La conoscenza delle proprietà fisico-meccaniche degli alimenti è di notevole interesse pratico in quanto, oltre ad influire sull'accettabilità del prodotto, è un mezzo per verificarne il comportamento in conservazione e/o trasformazione e per valutarne l'attitudine e la sensibilità alla manipolazione. La consistenza è una proprietà composita che esprime il complesso degli attributi strutturali del prodotto e le modalità con cui essi interagiscono con la sensazione tattile. La definizione di tessitura comprende numerose sensazioni percepite dall'uomo. La consistenza è,

in generale, percepita con le mani, il tipo di superficie (tomentosa, cerosa, liscia o ruvida) con le labbra, mentre, con l'aiuto dei denti, si determina la rigidità della struttura. Anche le orecchie contribuiscono alla percezione della tessitura, basti pensare ai rumori generati con la masticazione di quei prodotti per i quali la croccantezza è un aspetto peculiare. Congiuntamente al sapore ed all'aroma, la tessitura determina l'edibilità del prodotto. Ad esempio, un pomodoro sovra-maturo sarà scartato a causa dell'eccessivo rammollimento (*softening*) e non per gli importanti cambiamenti che si verificano a carico del gusto e dell'aroma.

La consistenza è usata principalmente come indice per la scelta dell'epoca di raccolta e viene misurata attraverso strumenti chiamati penetrometri che registrano la forza massima necessaria alla penetrazione di un puntale (di forma standardizzata) nella polpa del frutto (dopo rimozione dell'epidermide) ad una distanza stabilita.

La succosità è la sensazione percepita in bocca del liquido che si forma a seguito della masticazione dei tessuti di un frutto o di un ortaggio. La quantità di succo di molti frutti aumenta con la maturazione degli stessi sulla pianta. Questa caratteristica può essere misurata attraverso un esame soggettivo, ma la tendenza attuale verte all'utilizzo di tecniche strumentali e chimiche, le cosiddette metodologie oggettive. Quest'ultime rappresentano ad oggi un metodo di valutazione complementare e non sostitutivo di quello sensoriale, in quanto, allo stato attuale delle conoscenze, sono ancora in buona parte ignorate le correlazioni tra le proprietà chimico-fisiche dell'alimento e le sensazioni percepite dall'uomo.

1.4.2. Principi e metodi per la valutazione della qualità

In generale, valutare significa "attribuire un valore"; tuttavia, sono stati messi a punto differenti test ed indicatori quantitativi per descrivere obbiettivamente la qualità o per facilitare il raggiungimento di un livello costante e soddisfacente di qualità. A questo proposito, da un lato, c'è bisogno di certificare igienicamente i prodotti alimentari con lo scopo di standardizzare la produzione, le lavorazioni, la distribuzioni e le condizioni di trasporto; dall'altro lato si ha l'urgenza di "caratterizzare" (identificare a livello regionale) un certo tipo di alimento, in accordo alle sue proprie

peculiarità, a seconda del territorio di produzione. Non ci si riferisce solamente agli attributi sensoriali, ma anche a quelli nutrizionali, i quali permettono la valutazione del cibo in termini di “peculiarità”, considerato che il prodotto è stato trattato con vecchie tecniche tradizionali. Perciò, è molto importante analizzare e studiare specifici composti, la presenza dei quali nei cibi è un indice di qualità o una condizione di eccellenza; composti che, talvolta, possono anche portare alla luce incorrette procedure e condizioni di lavorazione, responsabili di alterazioni degli alimenti. Infatti, molti studi hanno sottolineato l'importanza del contenuto in polifenoli negli alimenti (Kurilich et al., 2002), in particolare nell'olio extra vergine d'oliva (Bendini et al., 2007; Carrasco-Pancorbo et al., 2007; Mosca et al., 2000; Papadopulos e Boskou, 1991), nel vino rosso (German e Walzem, 2000; Ray et al., 1999; Rice-Evans et al., 1996) ed in altri cibi vegetali, i quali possono influenzare le proprietà nutrizionali (Bendini et al., 2007; Ray et al., 1999; Rice-Evans et al., 1996), la salute umana (Friedman, 2007; German e Walzem, 2000), le caratteristiche organolettiche (astringenza, gusto, colore) (Bors et al., 1996; Haslam e Lilley, 1988) e la *shelf-life* (Bors et al., 1996; Papadopulos e Boskou, 1991; Rice-Evans et al., 1996). La valutazione di queste molecole può distinguere e caratterizzare univocamente il prodotto.

Per valutare e controllare la qualità di un prodotto alimentare (al fine di condurre correttamente le procedure di trasformazione, protezione e conservazione) ci si può riferire a diversi metodi e criteri:

- *Panel test*: è uno studio sistematico, condotto in condizioni statisticamente valide relative alle reazioni di gruppi rappresentativi di consumatori o di persone esperte, chiamate ad esprimere la loro opinione circa le caratteristiche organolettiche dei cibi. La percezione del gusto e dell'odore risultano da processi fisico-fisiologici molto complessi, non ancora pienamente compresi. Essi sono influenzati da altre percezioni sensoriali (vista e tatto), dalla temperatura, da specifici stimoli chimici e da varie motivazioni psico-sociologiche, in parte responsabili delle percezioni di accettabilità o non accettabilità. Per queste ragioni, l'esatta valutazione di tali percezioni è particolarmente difficile;

richiederebbe, infatti, addestramento e l'uso di saggi che possano essere analizzati statisticamente.

- *Sperimentazione animale*: permette lo studio dei valori nutrizionali e stabilisce l'assenza di tossicità sia in laboratorio che in allevamento.
- *Prove microbiologiche*: rivelano la presenza del rischio di proliferazione di microrganismi indesiderati.
- *Analisi chimiche o biochimiche*: possono permettere una valutazione quantitativa del valore nutrizionale di alcuni attributi organolettici e della stabilità, presunta o reale, risultante dalla conservazione e dalla distribuzione.
- *Misure chimico-fisiche*: (pH, potenziale redox) permettono la valutazione quantitativa di numerosi attributi organolettici e funzionali.

Per assegnare un valore alle proprietà sensoriali di un alimento, le analisi organolettiche, insieme ai test chimici e microbiologici, sono regolarmente effettuate, nella maggioranza dei casi, in conformità con le leggi correnti. Molti studi tendono a quantificare l'aroma, che può essere impiegata per la valutazione della freschezza del prodotto (ad esempio un latte di montagna deve possedere l'aroma tipico dei fiori alpini dei pascoli) e per controllarne lo sviluppo appropriato durante la maturazione del formaggio o degli insaccati. Inoltre, l'aroma può anche rappresentare un indicatore di alterazioni microbiche o della perossidazione degli acidi grassi (odore di rancido) (Lindsay, 1996). In questo contesto, l'utilizzo del naso elettronico sta assumendo sempre più maggior importanza. Questo dispositivo potrebbe anche essere in grado di valutare, in tempo reale, l'intensità dell'aroma dei composti aromatici responsabili degli aromi dei cibi (Mielle, 1996; Torrecilla, 2007). I sensori artificiali (come il naso elettronico) aprono nuove e stimolanti prospettive nell'industria alimentare, non come alternativa al panel test, ma principalmente come valido aiuto al controllo degli alimenti.

Da un punto di vista analitico, l'individuazione di composti marker (ad esempio la lisinoalanina come indicatore dei processi termici, il pentano per l'ossidazione degli oli, le ammine biogenetiche, quali la

tiramina e l'istamina per la freschezza del pesce, i polifenoli per la capacità antiossidante) permette di valutare la qualità alimentare in maniera oggettiva. L'utilizzazione di metodi analitici, come la gas cromatografia e la cromatografia liquida ad alta performance (HPLC), permette di identificare le molecole prodotte durante le lavorazioni e la conservazione, anche se presenti in piccolissime quantità. Tutto questo richiede metodi di separazione che possono produrre risultati fuorvianti e lunghi tempi analitici. In questo contesto, i sensori (sensori chimici, biosensori e naso elettronico) rappresentano un'alternativa alle tecniche convenzionali usate nel monitoraggio dei prodotti industriali, in quanto questi dispositivi sono in grado di effettuare determinazioni rapide, riproducibili e molto specifiche (Alimelli et al., 2007; Di Natale et al., 1997; Luong et al., 1997).

1.5. Fattori che influenzano la qualità dei frutti

Le qualità organolettiche degli alimenti ed il loro contenuto in composti fitochimici è fortemente influenzato da numerosi fattori di pre- e post-raccolta, quali il genotipo, l'epoca di raccolta, le tecniche di coltivazione, le condizioni climatiche ed agronomiche, le modalità di conservazione e di lavorazione dei prodotti (Cevallos-Casals et al., 2006; Gil et al., 2002; Lee e Kader, 2000). Anche Imeh e Khokhar (2002) hanno evidenziato come vari fattori (agronomici e genetici) possono influenzare la composizione chimica degli alimenti vegetali e giocano un ruolo significativo nel determinare la bioattività delle molecole organiche presenti. Per esempio, l'acido ascorbico è influenzato da numerosi fattori di pre-raccolta ed è suscettibile a significative perdite durante la manipolazione e la conservazione post-raccolta (Lee e Kader, 2000). Al contrario, il contenuto in alcuni carotenoidi e fenoli è più stabile e può aumentare in appropriate condizioni di conservazione. Le lavorazioni possono alterare la composizione antiossidante dei frutti, come la vitamina C ed i fenoli, ma possono aumentare la concentrazione di carotenoidi e migliorare l'assorbimento digestivo. Infatti, ad esempio, il licopene è spesso a concentrazioni più elevate nei prodotti lavorati, a causa della sua

dissociazione dal materiale della matrice vegetale (Shi e Le Maguer, 2000).

Di conseguenza, lo studio e la piena comprensione dell'influenza di questi fattori può rappresentare un valido ed efficace mezzo per l'ottimizzazione del contenuto in fitochimici nei frutti freschi, dal momento che essi sono in grado di promuovere la salute ed il benessere dei consumatori.

1.5.1. Fattori ambientali

Generalmente, il clima, ed in particolare la temperatura e l'intensità luminosa, hanno un elevato impatto sulle caratteristiche nutrizionali di frutta e verdura, sebbene gli effetti non sono ben definiti e vengono spesso descritti solo in termini di variazione stagionale o posizione geografica, che non sono prontamente quantificabili.

È stato visto come il luogo di produzione e la stagione di crescita siano in grado di influenzare i livelli di acido ascorbico, di carotenoidi e di flavonoidi. Ad esempio, furono registrati significativi effetti della stagione di crescita sulla capacità antiossidante (misurata con il metodo ORAC, *Oxygen Radical Absorbance Capacity*), sulle antocianine totali e sugli acidi idrossicinnamici totali in 18 genotipi di mirtillo (Howard et al., 2003). Similmente, Connor (2002a) trovò che la capacità antiossidante ed il contenuto totale di fenoli variava in relazione alla stagione per 16 cultivar di mirtillo. In entrambi gli studi, si registrarono anche significative interazioni tra la stagione ed il genotipo, rendendo l'interpretazione ancor più difficile. Per la fragole, Caruso et al. (2004) riportarono più alti livelli di saccarosio, acidi organici (citrico, malico, succinico ed ascorbico), vitamina C, calcio e cloro in frutti coltivati in doppi tunnel di plastica e raccolti in primavera; carotenoidi, magnesio, rame, nitrati, fosforo e zolfo si accumulavano maggiormente in autunno. Allo stesso modo, i livelli di carotenoidi del pomodoro risultavano essere più elevati alla fine del periodo di raccolta, rispetto alla raccolta precoce, effettuata in maggio (Auerswald et al., 1996). Questo potrebbe essere dovuto, in parte, alle differenze della radiazione solare incidente, ma anche ad uno stato idrico minore nelle piante più vecchie. In condizioni di stress idrico, infatti, un

aumento dell'acido abscissico potrebbe influenzare la produzione di etilene che, a sua volta, ha effetti sulla concentrazione dei carotenoidi. Tuttavia, il contenuto di acido ascorbico in pomodori dipendeva maggiormente dalla cultivar che non dai cambiamenti stagionali (Shinohara et al., 1982). È stato trovato che la data della semina, e quindi l'epoca di coltivazione, influenzava i fenoli totali, le antocianine, l'acido ellagico e la capacità antiossidante di fragole coltivate in serra (Anttonen et al., 2006). Stralsjo et al. (2003) riportavano anche che la concentrazione di acido folico in frutti di fragola variava a seconda dell'anno considerato. La locazione geografica influenzava il contenuto di quercitina nel lampone (Anttonen e Karjalainen, 2005) e la concentrazione di alcuni fenoli in mirtilli e fragole (Hakkinen e Torronen, 2000). Mele cresciute ad altitudini più elevate (maggior quantità di luce e minori temperature) possedevano livelli di acido ascorbico maggiori; mentre un più basso contenuto in β -carotene era osservato in albicocche a seguito di temperature più alte ad una minor altitudine. Una più elevata proporzione di raggi UV ad altitudini maggiori era anche responsabile di una più intensa colorazione dei frutti (Ubi, 2004).

L'interazione tra il genotipo e l'ambiente ha spesso un profondo impatto sul contenuto di fitochimici. Gli effetti possono essere visti come un trend generale attraverso molte cultivar o possono essere più pronunciati in specifiche linee. Parametri come alte o basse temperature, incremento nelle piogge o differenti tessiture dei suoli sono stati studiati abbondantemente per molte colture, in relazione alla resa ed alla qualità. I miglioratori genetici hanno dedicato una gran parte del loro lavoro allo sviluppo di cultivar adatte a specifici stress ambientali. Le cultivar vegetali sono state migliorate per un ampio adattamento in relazione a caratteristiche quali la resa, la resistenza a malattie e la vigoria. Tuttavia, non molte cultivar sono state sviluppate specificatamente in relazione ai possibili effetti che le interazioni genotipo-ambiente possono avere sul contenuto di fitochimici. Alcune eccezioni riguardano certi pigmenti come il licopene ed il beta-carotene. Le correlazioni tra l'intensità del colore e il contenuto di questi composti ha condotto alla selezione delle migliori cultivar per specifici ambienti (Crosby et al., 2007).

Luce, temperatura ed umidità sono spesso attentamente modulate nelle colture protette, allo scopo di controllarne la crescita, la produzione e la qualità. Per questo, maggiori sono le conoscenze degli effetti di questi parametri ambientali sul contenuto in fitochimici di colture allevate in serra, come i pomodori, i peperoni o cetrioli, rispetto alle colture di pieno campo.

Considerando l'impatto dell'ambiente e il management delle colture, la luce rappresenta forse il fattore principale. Frutti provenienti da piante cresciute in condizioni di alta intensità luminosa generalmente possiedono un alto contenuto in vitamina C, carotenoidi, come il licopene ed il beta-carotene, e fenoli; mentre frutti di piante coltivate in presenza di una bassa intensità luminosa sono caratterizzate da contenuti minori. Sebbene la luce non sia essenziale per la sintesi dell'acido ascorbico, la quantità e l'intensità della luce durante la stagione di crescita influenzano la quantità di acido ascorbico sintetizzato, dal momento che l'acido ascorbico è sintetizzato a partire dagli zuccheri forniti attraverso la fotosintesi (Lee e Kader, 2000). All'interno della stessa pianta, i frutti esterni esposti alla massima radiazione solare contengono generalmente quantità di vitamina C più elevate rispetto ai frutti interni, esposti a zone in maggiore ombreggiamento (Lee e Kader, 2000; Remorini et al., 2007). In maniera simile, anche se la formazione dei carotenoidi durante la maturazione dei frutti non richiede l'induzione da parte della luce, frutti all'ombra hanno mostrato livelli più bassi di carotenoidi rispetto a quelli esposti al sole (Ju et al., 1999; McCollum, 1954; Merzlyak et al., 2002). L'effetto della posizione del frutto nella chioma è stato osservato anche per le antocianine (Gil et al., 1995). Studi molto vecchi dimostrarono che, quando piante di pomodoro erano trasferite dall'ombra al sole, si verificava un incremento nel contenuto dell'acido ascorbico dal 15 al 66% a seconda della cultivar e delle condizioni di crescita (Hamner et al., 1945; Somers et al., 1951). Sono state, inoltre, individuate relazioni lineari tra la biomassa prodotta e la radiazione solare intercettata dalle piante ed è stata dimostrata la positiva influenza sulla differenziazione a fiore, sull'allegagione, sulla pezzatura, sulla concentrazione di solidi solubili e sulla colorazione dei frutti. Secondo quanto riportato da Rom et al. (1984) la colorazione dei frutti di pesco è direttamente correlata al quantitativo di

luce piena percepita dai frutti; la colorazione rossa, la consistenza della polpa ed il contenuto zuccherino sono risultati essere influenzati dalla posizione dei frutti all'interno della chioma. In generale, i frutti che si trovano nella porzione apicale della pianta presentano un contenuto in zuccheri maggiore rispetto ai frutti raccolti nelle parti più basse ed interne della chioma. Marini (2002), in una prova condotta su piante di pesco sottoposte a vari livelli di ombreggiamento (100, 45, 23 e 9% di luce piena) nelle ultime sei settimane di accrescimento del frutto, registrò che almeno il 30% di luce piena prima della raccolta del frutto era necessaria per il raggiungimento delle dimensioni massime del frutto. La percentuale del sovraccolore non era, invece, particolarmente influenzata dall'ombreggiamento; al contrario, un ombreggiamento per tre settimane, seguito da tre settimane di piena luce, portava ad un maggiore sovraccolore rosso rispetto a frutti che non erano mai stati ombreggiati. Questo era dovuto probabilmente al fatto che un ombreggiamento temporaneo portava ad una riduzione della clorofilla dell'epidermide del frutto, che, altrimenti, nasconde la presenza dei pigmenti antocianici. Riguardo al contenuto in solidi solubili, Marini (2002) determinò che, per raggiungere un adeguato tenore zuccherino, era necessaria più del 45% di luce piena durante le ultime tre settimane antecedenti la raccolta, così come rilevato nel caso della consistenza della polpa.

È stato spesso mostrato come la produzione dei composti fenolici nelle foglie delle piante aumenti con l'intensità luminosa. L'ipotesi del bilancio dei carbonio-nutrienti viene spesso usata per spiegare questo fenomeno (Bryan et al., 1983). In accordo a questa teoria, condizioni di elevata intensità luminosa o bassa disponibilità di elementi minerali determinano una maggiore attività fotosintetica ed una minore crescita, e determinano così una quantità di carbonio in eccesso disponibile per la produzione di metaboliti secondari, come i fenoli.

Questa idea è stata estesa all'ipotesi del bilancio della differenziazione della crescita, secondo la quale ogni fattore ambientale che riduce la crescita più che la fotosintesi potrebbe tradursi in una maggior produzione di composti fenolici (Herms e Mattson, 1992). Una terza ipotesi, per spiegare tale fenomeno, denominata modello della

competizione tra proteine (Jones e Hartley, 1999), afferma che la produzione dei composti fenolici sia il risultato della competizione tra le vie metaboliche delle proteine e dei fenoli per un comune precursore, la fenilalanina. Il modello attesta una relazione positiva tra luce e concentrazione di fenoli nelle piante.

Molti studi hanno esaminato gli effetti dell'intensità luminosa sulla produzione di fenoli nei frutti delle colture ortofrutticole. In uno studio condotto su fragole coltivate in serra, una riduzione della luce del 32%, causata da ombreggiamento, determinava una diminuzione del contenuto in antocianine, ma non aveva effetti sui fenoli totali, sull'acido ellagico e sulla capacità antiossidante (Anttonen et al., 2006). Probabilmente, gli effetti sulla produzione dei composti fenolici nelle foglie sono diversi da quelli nei frutti. A differenza dell'acido ascorbico e dei carotenoidi, la biosintesi delle antocianine durante la maturazione dei frutti è un processo luce-dipendente (Lancaster, 1992) che richiede un segnale fotomorfogenico mediato da fotorecettori. Come già detto precedentemente per le foglie, la luce è coinvolta nella produzione fotosintetica dei carboidrati, che sono il substrato per la biosintesi dei flavonoidi attraverso la via metabolica dell'acido scichimico e dei fenilpropanoidi. I carboidrati agiscono anche come induttori di geni coinvolti nella biosintesi delle antocianine. Conseguentemente, sufficiente quantità di luce e con una buona composizione spettrale è essenziale per iniziare la sintesi delle antocianine. Risultati di alcuni studi mostrano una relazione lineare tra l'accumulo di antocianine e l'intensità della luce (Ubi, 2004). Anche la formazione dei flavonol-glicosidi come il canferolo e la quercitina richiede luce, ma non la sintesi di tutti i fenoli è sensibile alla luce. Poiché è noto che i flavonoidi assorbono la radiazione UV, è ritenuto che la produzione di flavonoli venga stimolata per proteggere i tessuti vegetali dal danno causato dalle radiazioni UV.

I fitonutrienti dei frutti non sono solo influenzati dall'intensità della luce e dalla fotoperiodo, ma anche dalla qualità della luce stessa. È stato dimostrato che la luce rossa favoriva la formazione della calconaringenina ed aveva effetti positivi sulla sintesi dei carotenoidi in pomodori verdi maturi (Thomas e Jen, 1975), mentre il rosso lontano

bloccava il processo di produzione dei carotenoidi, a differenza delle condizioni buie del controllo (Dumas et al., 2003). In modo simile, Alba et al. (2000) osservarono che un breve trattamento con luce rossa su pomodori maturi verdi raccolti stimolava l'accumulo di licopene di 2-3 volte durante lo sviluppo del frutto, comparati a quelli al buio del trattamento di controllo. La luce rossa induce la formazione di licopene, mentre il rosso lontano la inibisce. Infatti, l'accumulo di licopene è regolato dai fitocromi localizzati nel frutto e non dipende dalla biosintesi di etilene. L'etilene regola la produzione della fitoene sintasi, enzima che catalizza la reazione di formazione del precursore di tutti i carotenoidi, il fitoene, a partire dal geranil-geranil pirofosfato, mentre la regolazione del fitocromo del licopene si verifica più avanti nella via metabolica (Alba et al., 2000). Dal momento che la luce rossa influenza la rottura della clorofilla, la sintesi dei carotenoidi può o no essere aumentata dalla luce blu, a seconda della specie, della cultivar e delle condizioni di crescita (Park et al., 2001). Aumentando la quantità di luce blu nello spettro delle lampade usate nelle serre per la produzione invernale di pomodori è possibile influenzare la capacità fotosintetica rispetto a piante illuminate con lampade convenzionali. A questo proposito, Menard et al. (2005) osservarono un effetto positivo della luce blu, fornita da diodi a luce intermittente, sulla crescita e sulla resa delle piante. Tuttavia, essi osservarono che, aumentando la proporzione blu del flusso fotonico fotosintetico (PPF) in piante di pomodoro, diminuiva il contenuto di licopene del frutto. D'altra parte, la luce blu aumenta le concentrazioni di acido ascorbico e antocianine in frutti di diverse specie (Lester, 2006; Parks et al., 2001; Spalding e Cosgrove, 1989).

La temperatura ha un'influenza diretta sul metabolismo vegetale e, conseguentemente, influenza la crescita delle colture, la resa, così come la struttura cellulare ed i componenti che determinano la qualità dei frutti. In generale, l'acido ascorbico diminuisce all'aumentare della temperatura e la regolazione, dovuta alla temperatura, della produzione dei carotenoidi è specifica per le diverse colture. Ad esempio, pomodori esposti a luce diretta in pieno campo o in serra sviluppano meno colore, principalmente perché il frutto raggiunge una temperatura abbastanza elevata da inibire la

sintesi del licopene. La formazione del licopene, di solito, si verifica tra i 12 e i 21°C, ma l'ottimo di temperatura può dipendere dalla specie o da altri fattori. Al contrario, il beta-carotene del pomodoro è solo leggermente influenzato dall'alta temperatura e probabilmente ciò è dovuto alla conversione del licopene in beta-carotene in presenza di alte temperature. D'altra parte, la massima sintesi di β -carotene nelle albicocche è raggiunta tra i 15 ed i 21°C, mentre le colture tipiche della stagione calda, come papaia, guava, mango e melone, hanno una temperatura ottimale per la sintesi del β -carotene intorno a 30°C (Lester, 2006). Nelle mele, le basse temperature aumentano la sintesi delle antocianine, mentre le alte temperature inibiscono il loro accumulo, dal momento che l'attività dell'enzima fenilalanina-ammonio-liasi (PAL) viene fortemente inibita (Iglesias et al., 2005). Una riduzione della perdita degli zuccheri della buccia attraverso la respirazione in presenza di basse temperature si traduce anche in una maggiore disponibilità di scheletri carboniosi per la biosintesi delle antocianine (Lancaster, 1992). Tuttavia, gli effetti della temperatura possono variare con lo stadio di sviluppo del frutto, la luce e la cultivar.

1.5.2. Le pratiche colturali

La concentrazione di molti composti nutrizionali nei frutti può essere modificata dalle pratiche agronomiche come la selezione delle cultivar, il tipo di suolo e di substrato di coltivazione, il sistema di crescita (forma di allevamento e quindi potatura), le concimazioni (sia naturali che di sintesi chimica), il materiale di copertura utilizzato, il tipo di portinnesto, la potatura anche in relazione alla quantità di luce disponibile ai vari organi della pianta, l'utilizzo dei regolatori di crescita, l'irrigazione, la salinità del suolo, la maturazione del frutto al momento della raccolta.

1.5.2.1. L'uso di fertilizzanti

Molti studi sono stati condotti per studiare l'influenza della nutrizione minerale sul valore nutrizionale dei frutti. L'uso intensivo di fertilizzanti azotati influisce notevolmente sul contenuto in fitochimici in frutta e verdura; in generale è stato visto che le applicazioni di azoto, se da un lato

aumentano la resa delle colture, dall'altro determinano una riduzione delle concentrazioni di vitamina C e carotenoidi in molti frutti. L'effetto si ha in quanto l'azoto determina un'accelerazione della crescita della pianta, causando un minor differenziamento dei tessuti, che risultano più poveri di nutrienti. Inoltre, si registra una riduzione della vita post-raccolta a seguito dell'aumento della suscettibilità ai danni meccanici, ai disordini fisiologici e ad un generale decadimento dei tessuti vegetali. Nel caso del pesco, somministrazioni di azoto superiori a 150 kg ha^{-1} non producono significativi benefici per quel che riguarda la produttività; al contrario, possono indurre un eccessivo accrescimento degli organi vegetativi a scapito dello sviluppo dei frutti, una maturazione ritardata ed una diminuzione del calibro commerciale e della serbevolezza del prodotto, con grave scadimento quali-quantitativo (Marangoni et al., 1993). La fertilizzazione con potassio, invece, ha un effetto opposto rispetto a quella azotata. Ad esempio, ridotti livelli di vitamina C nei succhi di arancia, limone, pompelmo e mandarino risultavano da un'alta fertilizzazione azotata, mentre un'aumentata fertilizzazione potassica incrementava il contenuto in acido ascorbico (Nagy, 1980). Lester (2006) riportava che l'acido ascorbico ed i carotenoidi aumentavano in frutta e verdura con livelli maggiori di K, Mn, B, Cu e Zn. Lester (2006) determinava anche che il fosforo poteva aumentare il livello di acido ascorbico nel pomodoro. Per gli altri fitochimici, come i fenoli, la teoria del bilancio dei carbonio-nutrienti (Bryant et al., 1983), sopra citata, afferma che il contenuto dei composti fenolici dovrebbe aumentare in condizioni di ridotta disponibilità di nutrienti, in quanto la fotosintesi non è ridotta quanto la crescita. Stewart et al. (2001) trovò che lo stress da carenza di azoto aumentava il contenuto di flavonoli nelle foglie, ma non nei frutti. La deficienza di fosforo aveva l'effetto contrario: nessun cambiamento del contenuto in flavonoli era registrato nelle foglie, mentre aumentavano nei frutti, ma solo nel primo stadio di maturazione. Nelle mele, alcuni studi (Saure, 1990) hanno mostrato una relazione tra il rifornimento di N e K e la formazione delle antocianine. Un eccesso di N può avere un effetto negativo diretto sulla sintesi delle antocianine o un effetto indiretto, dovuto alla formazione di

una chioma più fitta, mentre K tende a contrastare questi effetti negativi dell'azoto.

Negli ultimi anni si è registrato un significativo aumento dell'interesse dei consumatori verso alimenti provenienti da agricoltura biologica, soprattutto per motivi salutistici. Ad oggi, non c'è una diretta evidenza che alimenti provenienti da agricoltura biologica e quelli da agricoltura convenzionale differiscano nella concentrazione dei diversi nutrienti; fatta eccezione per il contenuto in nitrati dei prodotti biologici, che tende ad essere più basso a quello dei prodotti convenzionali (Bourn e Prescott, 2002; Brandt e Molgaard, 2001; Woese et al., 1997). Il limitato azoto in agricoltura biologica può risultare in una maggiore produzione di metaboliti secondari, così come l'uso di cultivar resistenti può aumentare il contenuto di metaboliti secondari di difesa nei frutti biologici (Brandt e Molgaard, 2001). Premuzic et al. (1998) mostrava che pomodori cresciuti su suolo organico ed irrigati solo con acqua possedevano una concentrazione di vitamina C maggiore a quella di pomodori coltivati in serra in idroponica, con una soluzione completa di nutrienti. La più alta concentrazione di vitamina C era correlata al ridotto sviluppo del fogliame nella coltura biologica, determinando una maggiore intercettazione luminosa.

1.5.2.2. Tipo di suolo

La tessitura e la struttura del suolo determinano le proprietà fisiche (porosità, disponibilità d'acqua, conducibilità idrica, diffusione relativa dei gas), chimiche (capacità di scambio ionico, condizioni redox, pH) e biologiche (attività dei microrganismi) del suolo, le quali possono influenzare il rifornimento di acqua e minerali da parte della pianta. Di conseguenza, i principali effetti del suolo, trovati in letteratura, sui composti nutrizionali dei frutti sono dovuti a differenze della concentrazione di minerali nel terreno e alla quantità d'acqua. Per esempio, meloni cresciuti in suoli argillosi possedevano il 25% in più di acido ascorbico, il 20% in più di β -carotene ed il 100% in più di acido folico rispetto a meloni coltivati in suoli sabbiosi (Lester e Crosby, 2002; Lester e Eischen, 1996). Anche il pH del suolo può avere un impatto sui fitonutrienti

(Mozafar, 1994). In generale, piante cresciute in condizioni di alto pH hanno più basse concentrazioni di acido ascorbico, mentre piante cresciute in terreni a basso pH presentano bassi livelli di carotene (Lester, 2006). Le pratiche agricole che influenzano le caratteristiche fisiche e chimiche di un suolo come, ad esempio, le rotazioni colturali, possono influenzare il contenuto nutrizionale dei frutti (Bourn e Prescott, 2002), anche se in letteratura poco è riportato degli effetti diretti sui fitonutrienti.

1.5.2.3. Gestione dell'irrigazione

La qualità dei frutti può essere influenzata dalla quantità di acqua applicata, in virtù della fertilizzazione. La risposta produttiva ad una corretta irrigazione è favorevole e gli effetti si manifestano negli incrementi e nella regolarità delle produzioni, nella contemporaneità della maturazione e nelle caratteristiche qualitative dei frutti. Quest'ultimo aspetto interessa il contenuto in solidi solubili, l'acidità, il gusto, il colore. La conservabilità, l'attitudine alla conservazione industriale, il contenuto in fitochimici. Varie sperimentazioni hanno evidenziato come si possa avere un effetto favorevole sulla qualità attraverso una riduzione degli apporti idrici durante l'ultima fase di crescita del frutto. Questa strategia, nonostante comporti una leggera diminuzione del calibro, aumenta la percentuale dei solidi solubili, la sensibilità dei frutti alle patologie che si possono sviluppare durante la conservazione e determina un anticipo della maturazione. Va ricordato che la capacità di estrarre acqua dal terreno, negli alberi da frutto, varia a seconda del tipo di portainnesto adottato; quest'ultimo influisce perciò sui consumi idrici della pianta e sulla capacità di evitare o ritardare lo stress idrico. Gli stress idrici rendono i frutti meno resistenti all'illuminazione diretta creando un effetto di "scottatura"; nel caso del pesco, si ha la formazione di un tessuto duro e cuoioso. Dall'altro lato, un eccessivo rifornimento idrico alla pianta, determina una rottura dei frutti, in particolare nelle Drupacee, ad un'eccessiva turgidità che rende i frutti più suscettibili ai danneggiamenti fisici, ad una ridotta consistenza della polpa, ad un ritardo dell'epoca di maturazione ed ad un ridotto contenuto in solidi solubili.

Dorais et al. (2001) osservarono, in frutti di pomodoro, che aumentando il rifornimento idrico aumentava la produzione, ma si riduceva significativamente la qualità, a causa di un elevato contenuto di acqua nel frutto. Di conseguenza, sulla base del peso fresco, i contenuti in vitamine, minerali e carotenoidi sono generalmente più bassi in condizioni di alto apporto idrico. Al contrario, in condizioni di bassa disponibilità idrica, l'aumento di acido abscissico può influenzare la produzione di etilene e perciò la concentrazione di carotenoidi. Leskovar et al. (2004) osservarono, nel melone, che la capacità antiossidante non era influenzata dai trattamenti irrigui, mentre le velocità di irrigazione e la cultivar influivano sul contenuto di licopene, acido ascorbico e deidroascorbico.

1.5.2.4. Portinnesto

Tra i fattori in grado di influenzare sia le caratteristiche organolettiche che nutrizionali dei frutti, indubbiamente il tipo di portainnesto (PI) gioca un ruolo fondamentale. Le conoscenze sugli effetti del PI sulla qualità dei frutti sono piuttosto scarse. In generale, i ricercatori sono quasi sempre concordi nel considerare l'influenza del PI come un effetto indiretto (Giorgi et al., 2005). È noto come il PI sia in grado di controllare la vigoria delle piante e di influenzare la capacità di intercettazione luminosa, modificando il bilancio tra accrescimento vegetativo e sviluppo degli organi riproduttivi. È stato dimostrato che alcuni PI sono capaci di indirizzare una percentuale più elevata di fotosintetati verso i frutti, grazie soprattutto alla minor competizione di quest'ultimi con gli organi vegetativi (Remorini et al., 2005). Le interazioni che si instaurano tra i due bionti si ripercuotono sia sulle caratteristiche vegetative della pianta sia su quelle produttive, con particolare riguardo alla qualità dei frutti. Il PI è in grado di modificare la taglia dell'albero, il portamento dei rami, la lunghezza totale dei germogli e la superficie fogliare della pianta (Giulivo et al., 1989; Guidoni et al., 1998; Loreti et al., 1993). Con adeguati PI è, inoltre, possibile ridurre la taglia delle piante, ma anche anticipare la fruttificazione ed incrementare le produzioni, sia sotto il profilo quantitativo che qualitativo. Nel pesco, per esempio, è opinione diffusa che i PI di susino aumentino la colorazione dei

frutti, in seguito, probabilmente, ad una riduzione della taglia delle piante che determina una maggiore intercettazione della radiazione solare da parte della chioma e dei frutti stessi. Di conseguenza, si ha una colorazione più intensa ed uniforme ed un incremento del contenuto zuccherino. Ancora nel pesco, l'uso di soggetti poco vigorosi determina un anticipo nell'epoca di maturazione con conseguenti riflessi positivi sul tenore zuccherino, che risulta più elevato rispetto alle piante innestate su PI più vigorosi (Giorgi et al., 2005; Guidoni et al., 1998; Loreti e Massai, 1999). Inoltre, è noto l'influenza del PI sul contenuto minerale dei frutti (in particolare N, K, Fe e Zn), sulla concentrazione di zuccheri (saccarosio e fruttosio) e acidi organici (acido succinico) (Caruso et al., 1996).

È noto come la capacità antiossidante del frutto di pesco dipenda dalla cultivar e dal tipo di portainnesto, oltre che dall'epoca di maturazione e dalla conservazione post-raccolta (Di Vaio et al., 2001; Forlani et al., 2003; Remorini et al., 2008; Scalzo et al., 2005; Tavarini et al., 2008). Molto poco, invece, si conosce sull'influenza che il PI esercita sulle caratteristiche nutraceutiche dei frutti e sulla capacità antiossidante totale, la quale è fortemente dipendente dalla base genetica. Ed è proprio per questo che i programmi di miglioramento genetico, volti alla creazione di nuovi genotipi, risulta di fondamentale importanza per l'adattamento degli alberi da frutto, ed in particolare del pesco, a quelle condizioni pedoclimatiche ed a quei sistemi colturali che siano in grado di promuovere e migliorare la qualità dei frutti (Albas et al., 2004). Giorgi et al. (2005) hanno evidenziato l'importanza della relazione che intercorre tra adattamento della pianta, lo sviluppo e le principali caratteristiche qualitative e nutrizionali dei frutti.

1.5.2.5. Potatura

La potatura è una pratica agronomica molto importante che influisce notevolmente sulla qualità organolettica e nutrizionale dei frutti. Nel caso specifico delle colture arboree, si distinguono una potatura di allevamento ed una di produzione. La prima è quella che si attua nei primi anni di impianto della coltura arborea, prima dell'entrata in produzione. Serve ad

impostare la forma di allevamento tale da permettere la maggiore intercettazione luminosa da parte dei frutti, con i positivi effetti che ha su di essi, come si è elencato precedentemente. Si deve ricordare, che la forma di allevamento deve essere scelta sulla base del portainnesto adottato ed in base alla fertilità del terreno, oltre che dell'andamento climatico della zona (in particolare si tiene di conto della piovosità media) e della reperibilità di manodopera. La tendenza odierna, infatti, tende a forme in volume che siano più basse possibili, in modo da agevolare le pratiche colturali ed *in primis* la raccolta. L'adozione di una forma di allevamento in luogo di un'altra si traduce in una modifica delle modalità con cui la pianta ripartisce le proprie risorse tra i vari organi e sulle differenze che si determinano sulla struttura della chioma, in rapporto al diverso vigore vegetativo delle piante e, pertanto, alla densità ed alla struttura del fogliame. Tali effetti si traducono in differenze nelle caratteristiche microclimatiche della chioma e, pertanto, nell'assimilazione netta della pianta e nella distribuzione e composizione spettrale della radiazione solare all'interno della vegetazione.

La potatura di produzione è necessaria per mantenere la forma d'allevamento; è utile per mantenere un giusto equilibrio vegeto-riproduttivo e quindi agisce sul carico di frutti per ogni pianta. Esiste una potatura invernale che si basa su tagli più drastici ed una potatura estiva, la cosiddetta potatura verde, che consiste in cimature e spuntature, in particolare dei germogli verticali inseriti nella porzione dorsale dei rami (succhioni), che sono molto vigorosi ed, in quanto tali, necessitano di troppi fotosintetati ed andrebbero ad inficiare sulle disponibilità nutritive dei frutti. La potatura verde prevede anche l'asportazione di quei germogli che altrimenti andrebbero ad ombreggiare i frutti. La potatura estiva non deve essere comunque troppo energica, altrimenti si correrebbe il rischio di influenzare sfavorevolmente il rifornimento complessivo di fotosintetati, con conseguenze negative sulle dimensioni dei frutti (Marini, 2002). Anche Remorini et al. (2005), in uno studio sull'influenza della potatura nella cv. di pesco Flavorcrest, innestata su 4 portinnesti, affermavano come la potatura verde influisse positivamente sul diametro, sul contenuto in solidi solubili e sulla consistenza della polpa.

1.5.2.6. Genotipo: selezione della specie e della cultivar

La qualità nutrizionale dei frutti varia fortemente tra le diverse specie. Peperoni e cachi sono noti per il loro elevato contenuto di vitamina C, perlomeno tra i frutti più comunemente utilizzati. Alti livelli di vitamina C si riscontrano anche negli agrumi, nel kiwi, nell'ananas, nella fragola, nel pomodoro e nel melone (Lester, 2006). Alcune specie meno conosciute, come la *Malpighia glabra* L. (ciliegia dell'India occidentale), sono costituite per più dell'1% del loro peso fresco da acido ascorbico (Loewus e Loewus, 1987). I frutti più ricchi di β -carotene sono: albicocca, mango, melone, nettarine, arancia, papaia e pesca (Lester, 2006). Le fragole selvatiche hanno mostrato avere una capacità antiossidante maggiore rispetto a quelle coltivate, le quali, a loro volta, possiedono una capacità antiossidante più alta del kiwi, delle albicocche e delle pesche, frutti quest'ultimi caratterizzati da valori di attività antiossidante simili (Scalzo et al., 2005).

All'interno di ciascun gruppo di alimenti di origine vegetale, esiste un range di variazioni genotipiche, riscontrabili nella composizione dell'alimento, nella qualità e nella durata potenziale del prodotto in post-raccolta. I selezionatori (*breeders*), negli ultimi anni, hanno selezionato con successo cultivar di carota, patata dolce e pomodoro con livelli significativamente più alti di carotenoidi e vitamina A, cultivar di cipolla e pomodoro con una più prolungata *shelf-life*, cultivar di mais dolce che mantengono la loro dolcezza più a lungo dopo la raccolta, cultivar di melone ed anguria con un più alto contenuto in zuccheri e con una maggiore consistenza della polpa, cultivar di ananas caratterizzate da quantitativi più elevati di vitamina C, carotenoidi e zuccheri. Questi sono solo pochi esempi di come la manipolazione genetica ha contribuito e contribuisce a migliorare la qualità di frutta e verdura. Tuttavia, in molti casi, cultivar commerciali selezionate per la loro capacità di resistere alla rigidità del mercato ed alla distribuzione, spesso presentano insufficienti qualità sensoriali, in particolare per quel che riguarda il gusto e l'aroma.

I *breeders* hanno un'opportunità senza precedenti e cioè quella di indirizzare i bisogni nutrizionali dell'uomo, sviluppando cultivar di frutta e verdura ricche in nutrienti. In questo modo, un approccio multidisciplinare

dovrebbe essere preso in considerazione con entusiasmo, al fine di migliorare la qualità salutistica e, conseguentemente, di massimizzare l'impatto sulla nutrizione ed il benessere dell'uomo. Esiste, inoltre, l'opportunità di applicare le biotecnologie per migliorare la qualità in post-raccolta e le proprietà salutistiche del prodotto fresco. Gli obiettivi primari, a questo proposito, dovrebbero essere focalizzati su:

- raggiungimento e mantenimento di un buon sapore e di un'adeguata qualità nutrizionale, così da soddisfare la domanda del consumatore;
- induzione di resistenza nei confronti delle fisiopatie e/o delle patologie, in modo da ridurre l'uso di prodotti chimici.

La continua ricerca di novità e l'introduzione di nuove tipologie varietali porta, oggi, ad un'offerta commerciale estremamente eterogenea, creando difficoltà non solo ai produttori, che devono effettuare la scelta tra numerose varietà. Ma anche allo stesso consumatore, sempre più confuso nel riconoscere il prodotto che appaghi le sue aspettative.

In letteratura, è noto come il genotipo giochi un ruolo chiave nel determinare la capacità antiossidante dei frutti. Gil et al. (2002), in uno studio relativo alla determinazione dei principali fitochimici in differenti cultivar di pesche, nettarine e percoche, hanno evidenziato come la capacità antiossidante fosse maggiormente correlata alla singola cultivar piuttosto che a gruppi di cultivar (a polpa gialla e/o a polpa bianca). Risultati simili sono stati osservati anche da Tavarini et al. (2008). Questa variabilità nei valori della capacità antiossidante, dovuta al genotipo, è, a sua volta, strettamente legata alla struttura chimica dei costituenti organici che la determinano. Perciò, l'importanza del genotipo sta proprio nel determinare la quantità ed il tipo di ciascun componente fitochimico. Attraverso programmi di miglioramento genetico, le colture possono essere costantemente migliorate, al fine di aumentare le loro proprietà funzionali e nutraceutiche. La selezione, ad esempio, di colture ricche in composti fenolici dall'elevato potere antiossidante ed antimicrobico potrebbe rappresentare lo step iniziale. Cevallos-Casals et al. (2006) hanno caratterizzato le principali proprietà dei composti fenolici in genotipi di pesco e susino. Questi autori hanno trovato come i frutti selezionati

dalle nuove cultivar fossero ricchi in composti fenolici ed in proprietà funzionali e ne suggeriscono l'uso per il mercato fresco e per l'industria di trasformazione.

Così come la capacità antiossidante totale ed i composti fenolici, anche il contenuto in vitamina C è fortemente dipendente dalla cultivar (Lee e Kader, 2000). Nelson et al. (1972) trovarono un valore di acido ascorbico che oscillava tra 19,3 e 71,5 mg/100g di peso fresco in sei diverse cultivar di fragole coltivate in quattro differenti luoghi. Lee et al. (1995) riportavano valori di acido ascorbico per 5 cultivar di peperoni variabili da 64 a 168 mg/100g di peso fresco.

1.5.2.7. Maturazione

La maturazione dei frutti è caratterizzata da un insieme di reazioni biochimiche, fisiologiche e strutturali che ne determinano le caratteristiche qualitative e nutraceutiche. Di particolare interesse, risultano i processi di rammollimento della polpa in quanto determinano lo sviluppo di molecole potenzialmente importanti per la dieta dell'uomo, date le loro proprietà salutistiche. Da sottolineare che la presenza dei nutraceutici non sempre risulta compatibile con la produzione di frutti che possano soddisfare le esigenze del mercato, a partire dalla filiera di distribuzione fino ad arrivare al consumatore, attento ai nuovi aspetti che concorrono a definire il concetto di qualità.

Aumentando il grado di maturazione, è possibile che si verifichi un incremento, una diminuzione o nessun effetto sugli specifici composti salutistici, a seconda della molecola, della specie o della cultivar di interesse. In generale, gli acidi fenolici tendono ad accumularsi nel primo stadio di crescita, dopo di che diminuiscono fortemente durante la maturazione, mentre il livello dei flavonoidi aumenta (Amiot et al., 2006). Navarro et al. (2006) osservarono che la capacità nel peperone aumentava con la maturazione. La maturazione del peperone era associata con l'accumulo dei carotenoidi ed i più alti livelli di β -carotene furono trovati in frutti pienamente maturi. Frutti di pomodoro raccolti alla colorazione verde e lasciati maturare sulla tavola possedevano meno acido ascorbico rispetto a quelli lasciati maturare nell'orto (Betancourt et

al., 1977; Kader et al., 1977), mentre Dumas et al. (2003) riportarono che l'acido ascorbico era o no influenzato dalla maturazione a seconda della cultivar analizzata.

In generale, per le specie arboree, la concentrazione di acido ascorbico aumenta con la maturazione nel caso delle albicocche, delle pesche e della papaya; mentre diminuisce nelle mele e mango. Il contenuto in vitamina C degli agrumi immaturi è maggiore di quello registrato nei frutti maturi. Il contenuto di antocianine aumentava in lampone, fragola e mirtillo con la maturazione (Wang e Lin, 2000).

Da tutti questi numerosi esempi, appare chiaro come lo stadio del frutto alla raccolta rappresenti uno dei più importanti fattori nel determinare la qualità salutistica di un frutto, dal momento che si ha un importante cambiamento nel profilo degli antiossidanti durante la maturazione. In ogni modo, frutti maturi sulla pianta possiedono generalmente un più alto contenuto di fitochimici rispetto ai frutti fatti maturare sulla tavola. Con il distacco dei frutti dalla pianta, termina il processo di assorbimento dei metaboliti e delle sostanze di riserva (zuccheri semplici, acidi, aromi, vitamine, sostanze fenoliche, amido, etc.) utilizzabili dai frutti durante la fase di post-raccolta. A questo proposito, il miglior risultato è ottenuto in campo, attraverso il corretto impiego delle tecniche colturali e la scelta dell'ideale epoca di raccolta. Per far sì che i risultati ottenuti in campo abbiano un buon esito in fase di post-raccolta, è necessaria l'adozione di opportune operazioni durante il periodo seguente alla raccolta e prima del consumo (lavorazione in magazzino, conservazione, trasporto, sosta nei punti vendita). Dopo la raccolta, infatti, i frutti sono soggetti alla modificazione dei loro caratteri qualitativi, all'insorgenza di fenomeni di senescenza, ad alterazioni infettive e fisiologiche ed ad una generale limitata serbevolezza, con conseguente perdita delle qualità e quantità del prodotto finale.

Le caratteristiche qualitative (succosità, dolcezza, aroma, colore, etc.), in molte specie, raggiungono la loro massima espressione al completamento della maturazione dei frutti sulla pianta, la cosiddetta maturazione fisiologica (un esempio sono le drupacee). Questo stadio di maturazione consente, tuttavia, un periodo di conservazione e/o

commercializzazione sufficientemente prolungato. I frutti raccolti tardivamente presentano, infatti, una maggiore suscettibilità ai marciumi, ai danni meccanici e possiedono una breve *shelf-life*, a causa della veloce insorgenza dei fenomeni della sovra-maturazione. D'altro canto, anche la raccolta effettuata troppo precocemente può favorire l'insorgenza di alcune fisiopatie, come il riscaldamento superficiale delle pomacee e la pastosità delle drupacee. Da ciò la necessità di individuare una maturazione cosiddetta "commerciale", definita in base all'evoluzione che avranno, nel tempo, le caratteristiche qualitative e la suscettibilità dei frutti alle malattie post-raccolta. La definizione degli standard di maturazione non può prescindere, inoltre, dalla destinazione commerciale che avrà il prodotto dopo la raccolta. Diversi potranno essere, ad esempio, gli stadi di maturazione idonei per la raccolta dei frutti che dovranno sostenere lunghi periodi di conservazione e/o trasporti di lunga percorrenza (necessariamente più arretrati) rispetto a quelli di frutti destinati alla vendita immediata (che potranno approssimarsi alla raccolta fisiologica).

La scelta dell'epoca ottimale di raccolta viene effettuata mediante la misura delle modificazioni chimico-fisiche che avvengono nei frutti, utilizzando idonei indici di maturazione, rilevabili in modo semplice e con metodologie e strumentazioni di ampia diffusione, quali gli indici fisici e chimici. Gli indici fisici sono rappresentati dalla durezza della polpa, dal colore di fondo e dal sovraccolore.

Gli indici chimici riguardano il contenuto in zuccheri e l'acidità titolabile. Gli zuccheri sono misurati come percentuale di sostanza secca solubile presente nel succo (residuo secco rifrattometrico, RSR) ed è espresso in °Brix, utilizzando un rifrattometro manuale o digitale. Il dosaggio dell'acidità totale esprime il contenuto di acidi presenti nel frutto ed è ottenuta neutralizzando gli acidi totali liberi presenti nel succo (acido malico, tartarico, citrico) con una soluzione 0,01 N di idrossido di sodio.

Questi ultimi anni ha registrato un notevole sviluppo la ricerca e l'individuazione di indici non distruttivi per la valutazione qualitativa dei prodotti ortofrutticoli. Tali indici, in genere, non interessano pochi campioni di frutta, ma possibilmente tutta la partita di frutti in modo da avere una valutazione oggettiva dello stadio di maturazione raggiunto e garantire

l'acquisto di ogni consumatore. In frutticoltura, tra le diverse tecniche non distruttive, sta trovando particolare diffusione la spettroscopia NIRs (Near Infrared Spectroscopy), mediante la quale zuccheri e durezza dei frutti vengono determinati con uno spettrofotometro che misura l'assorbimento delle radiazioni elettromagnetiche vicino all'infrarosso (Costa e Noferini, 2003). L'utilizzo di tale strumentazione rende possibile una selezione automatica dei frutti, non solo per il calibro ed il colore, ma anche in base allo stato di maturazione.

Particolarmente utile risulta essere l'utilizzo combinato di più indici qualitativi che consentono una valutazione più accurata rispetto all'uso di singoli indici, ma ancora più interessante sarebbe associare all'analisi strumentale, distruttiva e non, l'analisi sensoriale. Questo è un metodo di analisi in grado di valutare le caratteristiche qualitative di un prodotto in base alla percezione sensoriale dell'acquirente, utilizzando proprio l'uomo come strumento di misura.

1.5.3. Post-raccolta

1.5.3.1. Manipolazioni e modalità di conservazione

La frutta e la verdura sono prodotti altamente deperibili e prima di essere distaccati dalla pianta necessitano di un gran numero di macro- e micro-nutrienti ed un adeguato fabbisogno idrico. Una volta raccolti, i frutti e gli ortaggi mantengono le proprie funzioni vitali, le quali a loro volta dipendono dalle riserve che hanno accumulato in precedenza. La respirazione, la traspirazione ed i continui cambiamenti biochimici che in essi hanno luogo, ne determinano la qualità interna ed esterna. Il tasso di deterioramento dipende dal tipo di prodotto, dalle condizioni di crescita e da altri fattori, ma principalmente dalle condizioni nelle quali il prodotto è conservato una volta raccolto. A riguardo, i principali fattori da tenere in considerazione in post-raccolta sono senz'altro la temperatura, l'umidità relativa e la composizione dell'atmosfera di conservazione.

Le inevitabili alterazioni fisiologiche di un prodotto ortofrutticolo in post-raccolta possono solo essere rimandate entro certi limiti; quindi, la preparazione per il mercato fresco deve essere eseguita in maniera celere ed efficiente al fine di evitare onerose perdite di qualità.

Lo stadio di maturazione alla raccolta, la dimensione dei frutti e degli ortaggi e la metodologia di raccolta (manuale o meccanica) influenzano notevolmente la qualità dei prodotti vegetali ed il grado di lesioni presenti. I ritardi tra la raccolta ed il consumo o tra la raccolta e la trasformazione portano a perdite di qualità organolettica e nutrizionale che sono tanto maggiori quanto più si ha una esposizione a temperatura, umidità relativa e/o concentrazione di O₂, CO₂, C₂H₄ al di fuori del range ottimale per ciascun prodotto nell'intero periodo di post-raccolta (Lee e Kader, 2000). I frutti delle drupacee hanno tipicamente una vita breve in post-raccolta (Mitchell e Kader, 1989); essi passano rapidamente da una maturazione ideale alla sovrammaturazione, in relazione alla temperatura ed alle manipolazioni a cui sono esposti (Kader e Mitchell, 1989). Tali frutti perdono acqua rapidamente sottoforma di vapore acqueo che si sposta dal frutto all'ambiente circostante con conseguente avvizzimento. Nelle perdite d'acqua sono implicate le caratteristiche dell'epidermide del frutto (presenza o meno di tomentosità, pruina cerosa, rugosità), l'umidità relativa dell'ambiente circostante, la velocità dell'aria e la temperatura (Crisosto *et al.*, 1993; Mitchell, 1987 e 1989); possono deteriorarsi rapidamente anche per l'eventuale presenza di microrganismi responsabili dei marciumi. L'azione di questi patogeni è agevolata dalla presenza di ferite e/o lesioni sulla superficie del frutto ma anche dalla temperatura.

I danni meccanici sui frutti possono verificarsi dalla raccolta fino al confezionamento e il successivo trasporto, soprattutto se tali operazioni non vengono eseguite con gli opportuni accorgimenti. In letteratura (Mitchell *et al.*, 1989, 1990, 1991) è riportato come la suscettibilità di varie cultivar di nettarine e pesche nei confronti delle ferite aumenti quando la consistenza della loro polpa raggiunge valori inferiori a 3,5 Kg. A tale valore, le susine risultano invece più resistenti alle ammaccature rispetto a pesche e nettarine. A tale proposito, Crisosto *et al.* (1995) hanno stabilito per cultivar di pesche e nettarine, coltivate in California e destinate all'impacchettamento, un valor medio di consistenza alla raccolta di almeno 4,5-5,5 kg in modo da ridurre eventuali lesioni a carico dei frutti. Recenti studi (Cheng e Crisosto, 1994; Crisosto *et al.*, 1993) hanno mostrato un legame tra la presenza di macchie nere sull'epidermide di

pesche e nettarine con la contaminazione delle ferite da parte di ioni metallici, quali Fe^{2+} , Al^{2+} e Cu^{2+} . Anche la pulitura e la lucidatura dell'epidermide può aumentare la suscettibilità dei frutti con conseguente deprezzamento del prodotto. È da considerare perciò, che l'adozione di tutte quelle pratiche in grado di ridurre il più possibile il numero e l'entità delle manipolazioni sono di grande aiuto per minimizzare le perdite durante la vita di post-raccolta. Un esempio di tali pratiche è dato dalla selezione e dall'impacchettamento dei prodotti direttamente in campo al momento della raccolta.

L'esposizione prolungata delle drupe a temperature inferiori a 10°C , ed ancor più a temperature di 5°C , può portare a notevoli danni da freddo che si manifestano con lesioni del mesocarpo. Certe cultivar di pesco manifestano degli effetti dannosi già dopo una settimana di permanenza al di sotto dei 10°C , quali la secchezza e la farinosità dei tessuti, il blocco della maturazione, imbrunimenti, arrossamenti, traslucidità della polpa e colorazione scura della cavità dell'endocarpo. Tali sintomi sono sempre accompagnati da un decadimento delle qualità organolettiche dei frutti. Ad una temperatura di circa 0°C si ha una generale minimizzazione dei sintomi precedentemente esposti. Di fondamentale importanza è che i frutti appena raccolti vengano opportunamente refrigerati e tenuti ad una temperatura di circa 0°C durante tutto il periodo della post-raccolta, senza alcuna interruzione della catena del freddo, fino al momento della commercializzazione. Ad esempio, le ciliegie dovrebbero essere portate alla temperatura di circa 0°C entro 3-4 ore dalla raccolta. Le pesche, le nettarine e le susine devono essere raffreddate fino a $5-10^{\circ}\text{C}$ entro 6-8 ore e a 0°C entro 24 ore dalla raccolta, ma nel caso che siano molto mature è meglio che la temperatura di 0°C venga raggiunta entro 6-8 ore dalla raccolta (Crisosto *et al.*, 1995)

Per il pesco, la frigoconservazione dei frutti, dopo la raccolta può determinare un certo prolungamento della maturazione e del periodo utile per la commercializzazione e per il consumo. Tuttavia, se i frutti vengono frigoconservati troppo a lungo possono presentare imbrunimento e farinosità della polpa ed una graduale diminuzione di durezza, peso, acidità titolabile e componente *L* del colore (Robertson *et al.*, 1990).

1.5.3.2. Lavorazioni

La qualità nutrizionale dei frutti e degli ortaggi è fortemente dipendente dal tipo di lavorazione a cui questi prodotti sono sottoposti. Nella maggior parte dei casi, la lavorazione industriale dei cibi o molto spesso la semplice preparazione a casa determinano una significativa perdita di antiossidanti naturali. Questo è dovuto essenzialmente al fatto che la maggior parte di questi composti sono relativamente instabili. Operazioni come la sbucciatura ed il taglio, hanno mostrato indurre una rapida riduzione enzimatica di numerose sostanze antiossidanti (McCarthy e Mattheus, 1994). In particolare, le trasformazioni che prevedono la cottura (ma il concetto si può estendere a tutti i trattamenti termici quali la pastorizzazione o la scottatura) portano a notevoli perdite di nutrienti. Ad esempio, le vitamine idrosolubili, come la vitamina C e l'acido folico, vengono perse in grande quantità con le acque di scarto delle lavorazioni, mentre i composti liposolubili come il licopene possono stabilizzarsi o addirittura aumentare con la cottura. Ciò va a sostegno del fatto che la trasformazione dei prodotti ortofrutticoli può portare ad alcuni miglioramenti della qualità e delle loro proprietà salutistiche, in termini di incremento di biodisponibilità di alcuni fitochimici. L'impatto della trasformazione sull'attività antiossidante di frutta e verdura è un aspetto poco studiato ed in letteratura sono disponibili poche informazioni a riguardo. Le conseguenze della trasformazione del cibo e delle tecnologie conservative sulla capacità antiossidante totale, sono la risultante di una serie di eventi. Essi devono perciò essere studiati singolarmente al fine di selezionare quelle tecniche che permettono di minimizzare le perdite di capacità antiossidante dei prodotti trasformati.

Di seguito vengono discussi gli effetti delle pratiche di trasformazione sul contenuto dei principali composti ad attività antiossidante.

- Carotenoidi. Procedure quali il lavaggio, la sbucciatura, il taglio, la scottatura, l'aggiunta di agenti chimici conservanti, la disidratazione, la surgelazione e l'inscatolamento hanno un potenziale impatto sulla forma ed il contenuto dei carotenoidi. L'effetto più notevole della trasformazione sulla qualità in generale

e su quella salutistica in particolare, è dato dall'aumento di biodisponibilità di β -carotene che porta ad un aumento della capacità antiossidante. Southon (2000) trovò che la biodisponibilità di carotenoidi aumentava di 5 volte in vari prodotti trasformati, a seguito di un moderato riscaldamento o di una distruzione enzimatica della struttura cellulare. Le pesche forniscono un esempio di frutti in grado di mantenere e/o aumentare il loro contenuto di carotenoidi durante la lavorazione. Mangels *et al.*, (1993) determinarono come il contenuto di β -carotene e di β -criptoxantina aumentava in pesche inscatolate, così come un incremento era registrato nell'attività della vitamina A. Simili risultati furono trovati, dagli stessi autori, per le albicocche (prodotto fresco vs. trasformato). Sono stati studiati inoltre, gli effetti che vari metodi di cottura inducono sul livello dei carotenoidi e si è visto come carotenoidi quali il neurosporene, l' α - e β -carotene, il licopene, il fitofluene ed il fitogene resistono ai trattamenti termici (Miki e Akatsu, 1971; Khachik *et al.*, 1992; Boileau *et al.*, 1999).

- Vitamina C. Durante la fase di post-raccolta si possono verificare importanti perdite di vitamina C a seguito delle manipolazioni, delle pratiche di lavorazione, della cottura e della conservazione. Le ammaccature (*bruising*) influenzano significativamente la composizione chimica del pericarpo e dei tessuti dei frutti; ad esempio, è stato visto (Moretti *et al.*, 1998) come in tessuti di pomodoro "ammaccati" il contenuto di vitamina C fosse di circa il 15% più basso rispetto a quello determinato in tessuti sani. Anche le operazioni di taglio influiscono negativamente sui livelli di acido ascorbico che viene facilmente distrutto. Tali perdite sono a loro volta influenzate dalla tecnica e dal tipo di taglio (Barry-Ryan e O'Beirne, 1999), dalla composizione dei gas (Gil *et al.*, 1998; 1999), dal tipo di confezione (Barth e Zhuang, 1996), dalla perdita di acqua, dalla durata e dalla temperatura di conservazione (Nunes *et al.*, 1998; Lee e Kader, 2000), dall'intensità luminosa, dal calore, dalla presenza di ossigeno, dagli enzimi e dai metalli ossidativi (Albrecht *et al.*, 1991; Lee e Kader, 2000). Ossidazione e/o

degradazione termica dell'acido ascorbico si determina anche a seguito di operazioni quali scottatura, cottura, pastorizzazione, sterilizzazione, disidratazione e surgelazione (Lathrop e Leung, 1980; van den Broeck *et al.*, 1998).

- Fenoli. I composti fenolici sono soggetti alla degradazione durante le lavorazioni. In uno studio, relativo alla determinazione della vitamina C, del β - e α -carotene, in carote, spinaci, patate e numerose brassicacee, sono state evidenziate significative perdite dal 20 al 30% dei fenoli totali, a seguito di trattamenti quali il *blanching* e la surgelazione prolungata (Puupponen-Pimiä *et al.*, 2003). Asami *et al.* (2003) hanno indicato come la surgelazione e la frigo-conservazione avevano un basso impatto sul contenuto di fenoli totali e di procianidine nelle pesche. Al contrario, operazioni quali la sbucciatura con la soda e le tecniche di inscatolamento eseguite utilizzando le temperature tipiche della sterilizzazione commerciale causavano importanti effetti negativi sia sul contenuto di fenoli totali che su quello delle procianidine. Così come la vitamina C, i fenoli sono composti idrosolubili e in quanto tali possono essere facilmente asportati dalle acque di lavorazione; ne è un esempio lo studio condotto da Gil *et al.* (1999) su spinacio. Questi autori trovarono come il contenuto di flavonoidi nell'acqua di cottura degli spinaci fosse pari a circa la metà dei flavonoidi totali presenti nel prodotto fresco. Anche la trasformazione dei frutti in succhi può determinare delle variazioni nel contenuto di fenoli. Skrede *et al.* (2000) hanno registrato, durante la trasformazione dei mirtilli in succo, sostanziali perdite di fenoli, dell'ordine del 32% in antocianine, del 43% di procianidine e del 53% di acido clorogenico, rispetto ai valori del frutto fresco, non trasformato.

2. SCOPO DEL LAVORO

La qualità di un prodotto ortofrutticolo è una combinazione di attributi intrinseci ed estrinseci che gli conferiscono valore in termine di cibo e, per tale ragione, è un parametro alquanto soggettivo in relazione al soggetto considerato (agricoltore, commerciante, intermediario e consumatore). Ottime caratteristiche organolettiche, giusto prezzo e assenza di residui appaiono gli aspetti che più interessano il consumatore che, in questi ultimi anni sta dando sempre più importanza anche all'elevato valore nutrizionale del prodotto. Il consumatore, infatti, manifesta un'attenzione sempre più consapevole alla propria alimentazione, che viene orientata non più solo da scelte edonistiche ed economiche, ma anche da considerazioni nutrizionali e salutistiche. Questa crescente attenzione verso le caratteristiche dei prodotti che egli acquista per la propria alimentazione si sta estendendo a fasce sempre più ampie di popolazione. Il cibo, infatti, a seguito della cosiddetta "Rivoluzione Fitochimica" non rappresenta più, nei Paesi Occidentali, solo la fonte di carboidrati, proteine e lipidi, ma anche l'approvvigionamento di importanti molecole organiche capaci di svolgere un ruolo determinante nella prevenzione e/o cura di una vasta gamma di patologie. Frutta e verdura sono infatti caratterizzate da un basso contenuto di sostanza secca, da un alto contenuto di acqua e da un basso contenuto di carboidrati (fanno eccezione le patate, la cassava ed altri organi ipogei), di proteine e lipidi (eccetto l'avocado). Allo stesso tempo però rappresentano un'ottima fonte di minerali, di vitamine e di importanti molecole antiossidanti e fitochimici in grado di apportare notevoli benefici fisiologici e biochimici, quali la prevenzione e/o cura di patologie, come il cancro, le cardiopatie e le malattie degenerative connesse ai processi di senescenza (Kaur e Kapoor, 2001). La presenza di questi composti ha fatto assumere ai prodotti ortofrutticoli lo status di "cibo funzionale" o altrimenti detto "nutraceutico" o ancora "*pharmafood*".

Lo scopo di tale lavoro è stato quello di valutare gli effetti di fattori in fase di pre- e post-raccolta sugli aspetti qualitativi e salutistici di frutti da consumo fresco: la pesa ed il kiwi. In particolare, è stata studiata l'influenza del genotipo, dell'epoca di raccolta, della posizione dei frutti

sulla pianta, del management idrico e delle modalità di conservazione sulle caratteristiche organolettiche ed il contenuto in fitochimici dei due frutti oggetto di studio. Le caratteristiche organolettiche analizzate riguardano la pezzatura del frutto, la stima del colore di fondo della buccia (nel caso della pesca), il contenuto in solidi solubili, la consistenza della polpa, l'acidità titolabile ed il rapporto tra gli zuccheri solubili e quest'ultima. Dal punto di vista nutrizionale, abbiamo valutato la capacità antiossidante totale dei frutti, il contenuto in fenoli totali, in vitamina C, in pigmenti (clorofilla e carotenoidi) e la caratterizzazione quali-quantitativa degli acidi idrossicinnamici, delle antocianine e delle proantocianidine.

I risultati ottenuti sono quindi analizzati in un'ottica di valutazione del ruolo svolto dai fattori studiati durante la coltivazione dei frutti al fine di apportare miglioramenti alle loro proprietà salutistiche unitamente al mantenimento di ottimali caratteristiche organolettiche. Chiaramente questi aspetti sono stati attentamente esaminati anche nella fase di post-raccolta durante la conservazione dei frutti stessi.

3. MATERIALI E METODI

3.1 Materiale vegetale

3.1.1. *Actinidia deliciosa* (A.Chev.) C.F. Liang & A.R. Ferguson, cv. Hayward

I frutti di actnidia utilizzati in questo lavoro di Dottorato erano forniti dall'azienda agricola "Camillo Pacini e Figli" di Rigoli (PI), leader nella produzione frutticola di qualità (Kiwi, albicocco e susino) a livello regionale. L'azienda si è resa disponibile a collaborare a questo progetto al fine di caratterizzare e migliorare ulteriormente la qualità del prodotto che immette sul mercato. I frutti sono stati prelevati da porzione di chioma ben esposte alla luce su piante di 13 anni, allevate a palmetta alle distanze di 4,5X5,0 m. L'impianto, realizzato su terreno di medio impasto, con elevata dotazione di sostanza organica, era sottoposto ad inerbimento dell'interfilare ed irrigato per microaspersione. La tecnica colturale, la fertilizzazione e la difesa da crittogame e parassiti sono state predisposte secondo i disciplinari di produzione biologica, a cui l'azienda aderisce da alcuni anni. La sperimentazione si è prolungata per un periodo di tre anni durante i quali sono stati valutati gli effetti di diversi fattori (epoca di raccolta, posizione del frutto sulla chioma e modalità di conservazione) sugli indici di qualità e sulle caratteristiche nutrizionali dei frutti.

3.1.1.1 *Campionamento frutti primo anno*

La valutazione dei parametri qualitativi è stata effettuata su frutti raccolti a maturazione commerciale (8 Novembre 2004, secondo le consuetudini dell'azienda) e che presentavano al momento della raccolta una resistenza al penetrometro di circa 9 Kg ed un tenore zuccherino di almeno 9 °Brix. Una seconda raccolta è stata effettuata dopo 15 giorni di permanenza del frutto sulla pianta (maturazione tardiva), su 2 piante per 8 file contigue. I frutti sono stati poi immagazzinati nelle celle frigorifere dell'azienda ad atmosfera controllata (AC) e conservati per circa 5 mesi. All'inizio di Aprile sono state effettuate le analisi sui frutti, raccolti sia a maturazione commerciale che tardiva, appena prelevati dalla cella frigorifera e sui frutti mantenuti per 7 giorni a temperatura ed atmosfera

ambiente, dopo l'uscita dalla cella (AN). Sui frutti alla raccolta (sia commerciale che tardiva), sui frutti al termine della frigoconservazione e su quelli mantenuti per una settimana a temperatura ambiente erano determinati la capacità antiossidante totale, il contenuto in fenoli, la concentrazione di acido ascorbico e deidroascorbico ed il contributo percentuale dell'acido ascorbico alla capacità antiossidante totale, essendo l'acido ascorbico il principale fitochimico del kiwi.

Una seconda prova prevedeva la raccolta dei frutti da quattro differenti posizioni della chioma: esterna – alta, interna – alto, esterna – bassa ed interna – basso, caratterizzate da una diversa quantità di radiazione solare intercettata giornalmente. Le caratteristiche organolettiche [peso fresco (PF), contenuto in solidi solubili (SSC), durezza della polpa (FF da *flesh firmness*)] ed il contenuto in acido ascorbico e clorofilla e la capacità antiossidante totale erano misurati alla raccolta, dopo 4 mesi di frigo-conservazione e dopo una settimana a temperatura ambiente all'uscita dei frutti dalla cella frigorifera.

3.1.1.2 Campionamento frutti secondo anno

La valutazione dei parametri qualitativi è stata effettuata su frutti raccolti a maturazione commerciale (17-11-2005, secondo le consuetudini dell'azienda) (T1) e a maturazione tardiva (24-11-2005) (T2), quando i frutti avevano rispettivamente raggiunto valori di contenuto in solidi solubili pari a 8° e 10° Brix, misurato direttamente in campo su 20 frutti raccolti a random da più piante del frutteto. I frutti sono poi stati conservati in cella frigorifera ad una temperatura media di 0°C per 2 (S1) o 6 mesi (S2). Alla fine di ciascun periodo di frigoconservazione, i frutti erano analizzati immediatamente e dopo una settimana di mantenimento a temperatura ambiente (S1 + 7gg e S2 + 7gg, per le due differenti lunghezze di frigoconservazione), così da ricreare le normali condizioni che si verificano a casa di un consumatore “tipo”.

Gli indici di qualità misurati erano il peso fresco, il contenuto in solidi solubili, la consistenza della polpa; sui frutti veniva effettuata anche la determinazione della vitamina C, delle clorofille totali, dei carotenoidi, del contenuto in fenoli e della capacità antiossidante totale.

3.1.1.3 Campionamento frutti terzo anno

Gli indici di qualità erano valutati in frutti raccolti in due differenti epoche di raccolta [10 Ottobre (H1) e 14 Novembre (H2) 2006] quando i frutti avevano raggiunto rispettivamente un valore di 5 e 8° Brix, misurato direttamente in campo su 20 campioni per ciascuna raccolta, scelti a random da più piante del frutteto.

Due altri gruppi, composti da 40 frutti ciascuno, erano conservati in cella frigorifera a 0° C per 2 mesi (S1). Alla fine della conservazione, erano effettuate le analisi su 20 frutti, mentre i rimanenti 20 erano mantenuti per una settimana a temperatura ambiente (S2), così da ricreare le condizioni tipiche che si hanno nella casa del consumatore, dopo l'acquisto del prodotto. Al termine di questo periodo, i frutti venivano analizzati.

Gli indici di qualità misurati erano la concentrazione in solidi solubili, la consistenza della polpa, ma anche la capacità antiossidante totale e gli enzimi poligalatturonasi (PG) e β -galattosidasi (β -Gal), coinvolti nel processo di rammollimento dei frutti (*softening*).

3.1.2. *Prunus persica* L. Batsch

Anche per questa specie sono state effettuate diverse prove sperimentali ed il materiale vegetale in questo caso proveniva dal Centro Sperimentale del Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose "G. Scaramuzzi" dell'Università di Pisa, sito a Colignola (Pisa). Nel corso dei tre anni sono stati valutati gli effetti dell'epoca di raccolta, dell'esposizione dei frutti alla luce, del genotipo (portainnesto e varietà) e dell'irrigazione sugli indici di qualità e sulle caratteristiche nutrizionali dei frutti.

3.1.2.1 Campionamento frutti primo anno

Per la prima prova erano utilizzati frutti provenienti da un pescheto situato in un terreno pianeggiante, di medio impasto, tendenzialmente argilloso e privo di calcare attivo, dotato di irrigazione a goccia con due gocciolatori per pianta che apportavano un rifornimento idrico di 8 L/h, posizionanti a circa un metro di distanza.

Questa prima prova era condotta nell'estate 2005 su 40 piante di pesco (*Prunus persica*), cultivar Flavorcrest, messe a dimora nel Febbraio 1998, allevate a fusetto con sesto d'impianto di 4,5 x 2,0 m ed innestate su portinnesti (PI) di diversa vigoria: GF 677, Barrier 1, Mr.S 2/5 ed Ishtara-Ferciana (Loreti e Massai, 2002). Nella **Tabella 3.1** sono riportate le principali caratteristiche di tali portinnesti (PI).

Tabella 3.1. Elenco ed origine genetica dei PI utilizzati; la vigoria vegetativa è riferita ai valori di area fogliare (m²/pianta).

| PI impiegato | Origine Genetica | Vigoria Vegetativa |
|------------------|--|--------------------|
| GF 677 | <i>P. persica</i> x <i>P. amygdalus</i> | Elevata |
| Mr.S. 2/5 | Ibrido naturale di <i>P. cerasifera</i> | Media |
| Ishtara-Ferciana | (<i>P. cerasifera</i> x <i>P. salicina</i>) X (<i>P. cerasifera</i> x <i>P. persica</i>) | Media |
| Barrier 1 | <i>P. persica</i> x <i>P. davidiana</i> | Elevata |

Il GF 677 è stato selezionato in Francia (Stazione INRA La Grande Ferrade) nel 1956 da Bernhard, ha trovato un'ampia e meritata diffusione solo con introduzione su vasta scala delle tecniche di moltiplicazione *in vitro*, che hanno consentito di superare l'inconveniente di una ridotta radicazione per talea. Tra i portinnesti ibridi di pesco x mandorlo, è quello che si presta maggiormente a terreni più avversi, come quelli calcarei, aridi e compatti (purché non asfittici). In tutte queste condizioni il GF 677 garantisce un buon sviluppo degli alberi ed una produzione più elevata in confronto con altri soggetti.

Data l'elevata vigoria che induce, il GF 677 non si presta per la coltivazione del pesco su terreni fertili, con sestri d'impianto ravvicinati e con cultivar precoci e/o vigorose, nelle quali può provocare un sensibile aumento dei costi di potatura, un certo ritardo della maturazione ed una riduzione della qualità dei frutti. I principali limiti del GF 677 sono dati dall'elevata suscettibilità a numerosi patogeni fungini e a nematodi galligeni (Loreti e Massai, 2002).

Il Barrier 1 è un portinnesto ibrido interspecifico (*Prunus persica* x *P. davidiana*), ottenuto dall'Istituto per la Propagazione delle Specie Legnose di Firenze. Presenta caratteristiche simili al GF 677 e ne può costituire una valida alternativa; induce una vigoria analoga o di poco inferiore a quest'ultimo. Si adatta bene a vari tipi di terreno, compresi quelli clorosanti, asfittici ed affetti da stanchezza. Rispetto al GF 677, risulta più resistente alle avversità biotiche. Una particolarità del Barrier 1 sembra essere il ritardo che induce sulle epoche di fioritura e di maturazione dei frutti (Loreti e Massai, 2002).

L'Mr.S. 2/5 e l'Ishtara-Ferciana sono due portinnesti di susino. L'Mr.S. 2/5 è stato selezionato presso il Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose "G. Scaramuzzi" dell'Università di Pisa, nell'ambito di una popolazione di semenzali ottenuta per libera impollinazione di *Prunus cerasifera*. Induce una vigoria del 15-20% in meno rispetto al franco e presenta elevate caratteristiche qualitative della produzione, inducendo anche un leggero anticipo dell'epoca di maturazione. Questo portinnesto è da preferire per terreni dotati di buona od elevata fertilità, dove induce un'eccellente efficienza produttiva ed un'ottima qualità dei frutti; inoltre consente un buon controllo della vigoria e quindi una riduzione dei sesti d'impianto. Attualmente rappresenta il solo portinnesto consigliato per terreni soggetti a ristagno idrico, purché non eccessivamente argillosi.

L'ishtara-Ferciana è un ibrido interspecifico, ottenuto dall'INRA di Bordeaux; presenta la peculiare caratteristica di essere polivalente in quanto può essere usato come portinnesto per il pesco, il susino e l'albicocco. Con il pesco ha mostrato una buona affinità d'innesto, una media vigoria indotta ed una ridotta o nulla attività pollonifera; le piante innestate su questo soggetto risultano mediamente vigorose ed anticipano la maturazione dei frutti. Predilige i terreni fertili e freschi, dove può ridurre la taglia degli alberi e migliorare la qualità dei frutti, soprattutto con le cultivar precoci, sulle quali induce un leggero anticipo della maturazione. Il buon equilibrio vegeto-produttivo permette di ottenere un'elevata pezzatura e colorazione dei frutti e di ridurre gli interventi di potatura (Loreti e Massai, 2002).

In prossimità dell'epoca di raccolta commerciale per Flavorcrest (14 Luglio) erano effettuati 4 campionamenti dei frutti ad intervalli settimanali: il 5, il 12, il 19 ed il 26 luglio. I frutti raccolti, provenienti da frutti esposti a luce diretta (che ricevevano una quota di radiazione solare giornaliera diretta superiore al 70% di quella totale), penombra (che intercettavano una percentuale di luce compresa tra il 70 ed il 30%) ed ombra (che intercettavano meno del 30% della radiazione solare diretta). I frutti così raccolti erano utilizzati per la determinazione delle caratteristiche qualitative (stima del sovraccolore, peso fresco, durezza della polpa, contenuto in solidi solubili ed acidità titolabile) e nutrizionali (capacità antiossidante e contenuto in carotenoidi).

Una seconda prova prevedeva il confronto tra frutti provenienti da cultivar di pesco a polpa gialla (Springcrest, Spring Lady, Royal Glory, Redhaven e Glohaven), nettarine (Armking, Crimsongold, Springred), percoche, ovvero pesche da industria, (Federica e Romea) ed una cultivar di pesco a polpa bianca (Maria Bianca). Tutte le cultivar erano innestate sul portinnesto Sirio, il quale, essendo dotato di un buon apparato radicale, ben si adatta ai terreni fertili e permeabili. Se paragonato al GF 677, il Sirio induce una riduzione della vigoria di circa il 40%, un anticipo dell'entrata in produzione, una più elevata efficienza produttiva, una maggiore pezzatura ed una migliore colorazione dei frutti (Loreti e Massai, 2002).

Le pesche utilizzate in questa prova provenivano da un pescheto sito in una zona pianeggiante e con condizioni edafiche simili a quelle descritte per la prova precedente. Anche in questo frutteto era praticata l'irrigazione a goccia. Il sesto d'impianto era di 4,5 x 2,5 m e la forma d'allevamento adottata è il fusetto libero. Tutte le piante in prova avevano subito un diradamento dei fiori alla piena fioritura e prima della fase di indurimento del nocciolo, in base alle dimensioni di ogni pianta ed al numero di rami a frutto lasciati dopo la potatura invernale. Alla fine, sui rami misti veniva lasciato un frutto ogni 15 cm. Alla maturazione, i frutti venivano raccolti in maniera casuale su ogni pianta, quando la durezza della polpa indicava che i frutti erano pronti per il consumo. Per ciascuna cultivar, venivano campionati 30 frutti, provenienti da piante diverse della

stessa cultivar, che erano utilizzati per le analisi delle caratteristiche qualitative e nutrizionali. Al momento della raccolta, 20 frutti per cultivar erano immediatamente utilizzati per la determinazione delle caratteristiche organolettiche (sovraccolore, peso fresco, durezza della polpa, contenuto in solidi solubili, acidità titolabile). Gli altri 10 frutti erano campionati, immersi in azoto liquido e conservati a -80° C fino al momento delle analisi biochimiche (capacità antiossidante, contenuto in carotenoidi, vitamina C e fenoli).

3.1.2.2 Campionamento frutti secondo anno

La cultivar di pesco Flavorcrest, a polpa gialla, era innestata sui quattro portinnesti utilizzati anche per la prova dell'anno precedente: GF 677 (*Prunus persica* x *Prunus amygdalus*), Barrier 1 (*Prunus persica* x *Prunus cerasifera*), Mr.S. 2/5 (ibrido naturale di *Prunus cerasifera*) e Ishtara-Ferciana [(*Prunus cerasifera* x *Prunus salicina*) x (*Prunus cerasifera* x *Prunus persica*)]. Il pescheto era stato impiantato nel Febbraio 2000 con sesti d'impianto di 4,5 x 2,5 m e con forma d'allevamento a fusetto libero. Un totale di 50 piante erano innestate sui quattro portinnesti. In tutti gli alberi, i frutti erano diradati quattro settimane dopo la piena fioritura e prima dello stadio II di crescita del frutto. L'intensità del diradamento dipendeva dalla dimensione degli alberi e dal numero di rami a frutto lasciati dopo la potatura invernale (su ogni ramo misto veniva lasciato un frutto ogni 15 cm). Erano eseguite una irrigazione convenzionale ed una potatura estiva. I frutti selezionati per la raccolta erano quelli che avevano ricevuto il 50-70% dell'irradiazione solare complessiva; erano raccolti 20 frutti, per ciascun portinnesto, in tre differenti epoche: una raccolta precoce il 30 Giugno 2006 (H1), una intermedia il 7 Luglio 2006 (H2) ed una tardiva il 13 Luglio 2006 (H3). La raccolta H2 corrispondeva allo stadio di maturazione commerciale previsto per la cultivar Flavorcrest. La valutazione dei parametri qualitativi (peso fresco, durezza della polpa, contenuto in solidi solubili, acidità titolabile e sovraccolore) erano determinate sul frutto intero. Le caratteristiche nutrizionali (capacità antiossidante totale, contenuto in fenoli e carotenoidi) erano definite, nelle pesche per ciascuna epoca di raccolta, nelle due differenti frazioni: polpa

e buccia. Il contenuto in vitamina C era valutato ad H1 e H3, in entrambe le frazioni.

3.1.2.3 Campionamento frutti terzo anno

Nel corso del terzo anno, una parte del lavoro (campionamento e determinazione delle caratteristiche organolettiche dei frutti) è stata svolta presso il Dipartimento di Chimica e Biotecnologie Agrarie dell'Università di Pisa, mentre la valutazione del contenuto in acidi idrossicinnamici, antocianine e procianidine nei frutti di pesco è stata eseguita presso il CEBAS-CSIC (CEBAS = Centro de Edafologia y Biología Aplicada del Segura; CSIC = Consiglio Superiore di Investigazione Scientifica) di Murcia (Spagna), sotto la supervisione della Dott.ssa M.I. Gil e del Dott. F.A. Tomas-Barberan. Il CEABS-CSIC è un centro multidisciplinare che fa capo a tre aree tecnico-scientifiche di ricerca (Scienze Agrarie, Scienze e Tecnologie degli Alimenti e Risorse Naturali), relazionate tra di loro, ma ognuna delle quali è in grado di funzionare con la necessaria autonomia, però all'interno di un progetto comune.

Lo scopo di questa prova sperimentale era quello di valutare l'effetto del deficit idrico sulle caratteristiche organolettiche e nutrizionali dei frutti di pesco cv. Suncrest. Allo stesso tempo, era determinata anche l'influenza di differenti portinnesti sulla qualità delle pesche.

I portinnesti utilizzati in questa prova erano il GF 677 (*Prunus persica* x *Prunus amygdalus*), il Penta (*Prunus domestica*) ed il Montclar (*Prunus persica*), innestati su Suncrest, una cultivar comune di pesca a polpa gialla. Il GF 677 ed il Montclar sono considerati portinnesti ad alta vigoria, mentre il Penta a media vigoria. Il frutteto era impiantato nel Febbraio 2003 con sesti d'impianto di 5 m x 5 m interfila. Le pratiche colturali erano quelle tipiche dell'area di produzione; le piante erano sottoposte a potatura e ricevevano una fertilizzazione commerciale costituita di 120 kg ha⁻¹ N, 80 kg ha⁻¹ P e 100 kg ha⁻¹ K nella primavera antecedente l'esperimento. Il frutteto era situato su terreno pianeggiante, argilloso (42% sabbia, 38% limo e 20% argilla) e dotato di un sistema di irrigazione a goccia (due gocciolatori da 4 L h⁻¹ per pianta alla distanza di 1 m dal tronco). Tutte le misure erano condotte durante la stagione 2007;

erano state selezionate sei piante per ciascun portainnesto, in base alle caratteristiche di uniformità: piante irrigate con circa 50 litri di acqua al giorno ($20 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ giorno}^{-1}$) dall'1 Giugno al 30 Settembre, e piante che non ricevevano nessun tipo di irrigazione dall'inizio di Giugno fino alla fine della stagione di crescita. Il volume d'acqua giornaliero manteneva il contenuto idrico del terreno, nella zona radicale, intorno a circa l'80% della capacità di campo. Il diradamento era eseguito quattro settimane dopo la piena fioritura, lasciando un frutto ogni 15 cm sui rami misti.

Il Montclar® Chanturge deriva dalla linea di *Prunus persica*; è stato selezionato in Francia dall'INRA da semenzali provenienti dalla regione di Clermont-Ferrand e fu introdotto commercialmente in questo Paese nel 1960. Questo portainnesto presenta una buona resistenza alla clorosi ferrica e alla carenza di magnesio. I semenzali risultano essere sensibili all'*Agrobacterium tumefaciens* e all'oidio. Induce una vigoria elevata e l'omogeneità dei semenzali permette di ottenere impianti molto uniformi. Il Penta è un clone di *Prunus domestica*, ottenuto da Nicotra e Moser, per libera impollinazione della cultivar 'Imperial Epineuse' nel 1970 presso l'Istituto Sperimentale per la Frutticoltura di Roma (Italia), e introdotto commercialmente nel 1995. E' resistente al calcare (come il GF 677), è adatto ai terreni pesanti, all'asfissia radicale e al ristoppio. E' altamente resistente ai nematodi galligeni (*Meloidogyne ssp*) ed è tollerante al *Pratylenchus vulnus*. E' resistente al *Verticillium daliae*, *Armillaria mellea* e *Phytophthora cinnamomi*. È un portainnesto polivalente, affine con il pesco, nettarine, albicocco, susino e mandorlo. Su quest'ultimo, induce un ritardo nella fioritura di 5-6 giorni rispetto al GF 677. L'ancoraggio è ottimo, essendo l'apparato radicale uniformemente distribuito. L'attività pollonifera è assente. Sul pesco e sulle nettarine induce uno sviluppo delle piante pari al 10-20% in meno del GF 677, una migliore colorazione dei frutti e un anticipo della maturazione di alcuni giorni, specialmente nelle varietà precoci; sull'albicocco induce una pezzatura simile o leggermente superiore al Mirabolano 29 C. Anche la colorazione dei frutti di pesco e nettarine è risultata migliore rispetto al GF 677 e al pesco franco. L'efficienza produttiva è uguale a quella indotta dal GF 677 o dal pesco franco.

Il potenziale idrico (Ψ_s) era misurato nel momento più caldo del giorno, tramite una camera di pressione (Technogas, Pisa), tipo Scholander (Scholander et al., 1965). La pressione era aumentata con incrementi di 0,2 MPa ogni 30 secondi (Turner, 1981). Il potenziale idrico era misurato su tre foglie per pianta, avvolte in fogli di alluminio e chiuse in scatole di polietilene 3 ore prima delle misure. Le foglie erano poste nella camera nel giro di pochi secondi dal taglio.

I frutti (da 10 a 20 per ciascun portinnesto e per le due tesi, irrigata e non-irrigata) erano raccolti alla maturazione commerciale che, per la cultivar Suncrest, era prevista per il 23 Luglio 2007. Venivano quindi determinate le caratteristiche qualitative: peso fresco, sovraccolore (valutazione visiva), consistenza della polpa, contenuto in solidi solubili ed acidità titolabile. I frutti erano poi sbucciati e tagliati verticalmente in quattro parti; i campioni della polpa erano immediatamente congelati, liofilizzati, posti in vials e conservati a -20°C, fino al momento delle analisi delle caratteristiche nutrizionali.

3.2 Caratteristiche organolettiche

3.2.1. Peso fresco

Il peso fresco di ciascun frutto è stato determinato a mezzo di bilancia elettronica, Scaltec, modello SBA51.

3.2.2. Valutazione del sovraccolore

Per la determinazione del sovraccolore è stato fatto ricorso ad una valutazione di tipo visivo, effettuata in maniera soggettiva da una sola persona, così da mantenere sempre, ed in tutti i casi, lo stesso metro di giudizio. Ad ogni frutto era assegnato un punteggio che andava da 1 a 10, in base alla presenza di sovraccolore: 1 era attribuito ai frutti che non possedevano sovraccolore, 10 a quelli che presentavano circa il 100% della superficie del frutto colorata in rosso.

3.2.3. Durezza della polpa

Per la misura della consistenza della polpa (FF, dall'inglese *Flesh Firmness*) era utilizzato un penetrometro digitale (Modello 53205, TR,

Forlì), con puntale di 8 mm, corrispondente ad una superficie di 0,50 cm². La misura era effettuata su entrambe le facce del frutto, nella zona equatoriale, previa asportazione dell'epidermide. I valori sono espressi in Kg forza ed in Newton.

3.2.4. Contenuto in solidi solubili

Per determinare la concentrazione in solidi solubili (SSC) o del residuo secco rifrattometrico (Rsr), era utilizzato un rifrattometro digitale autocompensante per la temperatura (Modello 53011, TR, Forlì), che forniva le letture in °Brix. Tale determinazione sfrutta l'attività ottica dei composti presenti nel succo del frutto da analizzare.

La concentrazione in SSC viene normalmente assunta come misura approssimativa del contenuto in zuccheri, in quanto quest'ultimi sono la componente più abbondante allo stadio di maturazione di un frutto. Sono comunque compresi nella lettura anche altri soluti, quali gli acidi organici, gli amminoacidi, le vitamine e gli elementi inorganici. Per le misurazioni, si disponevano sul prisma dello strumento 2-3 gocce di succo provenienti da una piccola porzione di frutto, che veniva asportata dalle due facce equatoriali, nello stesso punto in cui era condotta la valutazione della durezza della polpa.

3.2.5. Acidità titolabile

Questa determinazione analitica si basa sulla neutralizzazione, con una soluzione basica di idrossido di sodio (NaOH; 0,1 N), dell'acidità del succo presente nel frutto. Il valore dell'acidità titolabile (TA) veniva espresso in meq NaOH mL⁻¹.

Per ottenere il succo, l'intero frutto veniva omogeneizzato con un frullatore, dopodiché era filtrato con garza, centrifugato per 10 minuti a 6000g a 4°C e, infine, filtrato con carta da filtro. Per la titolazione erano utilizzati 10 mL di estratto, portati ad un volume di 50 mL con acqua deionizzata e neutralizzati con NaOH, usando, come indicatore, la fenolftaleina (3-4 gocce).

3.3 Caratteristiche nutrizionali

3.3.1. Determinazione della capacità antiossidante

Esistono numerose e differenti molecole antiossidanti all'interno dei frutti e ed è molto difficile misurare ciascuna componente antiossidante separatamente. Tuttavia, sono stati sviluppati numerosi metodi per valutare la capacità antiossidante totale in frutti freschi ed ortaggi e nei loro derivati. Tra questi si ricordano i seguenti: 2,2-azinobis (3-etil-benzotiazolina-6-acido sulfonico) (ABTS) (Leong e Shui, 2002; Miller e Rice-Evans, 1997); 2,2-difenyl-1-picrylidrazile (DPPH) (Brand-Williams et al., 1995; Gil et al., 2002); potere antiossidante ferro-riducente (Ferric Reducing Antioxidant Power, FRAP) (Benzie e Strain, 1999; Guo et al., 2003; Jimenez-Escrig et al., 2001), e la capacità di assorbimento dell'ossigeno radicale (Oxygen Radical Absorption Capacity, ORAC) (Cao et al., 1993; Ou et al., 2001; Prior et al., 2003). Queste tecniche hanno mostrato risultati differenti, sia tra le diverse specie colturali sia all'interno dei diversi laboratori dove sono condotte le determinazioni. Ou et al. (2002) registrarono nessuna correlazione tra l'attività antiossidante misurata con il FRAP e quella determinata tramite il metodo ORAC, in 927 campioni vegetali, mentre questi metodi rivelarono un'alta correlazione in frutti di mirtillo (Connor et al., 2002b). In maniera simile, Awika et al. (2003) osservarono un'alta correlazione tra ABTS, DPPH e ORAC in piante di sorgo e nei suoi derivati. Thaipong et al. (2006), in uno studio sulla comparazione tra i differenti metodi (ABTS, DPPH, FRAP e ORAC) per la stima della capacità antiossidante in estratti di frutti di guava, osservarono che la tecnica del FRAP mostrava la maggiore riproducibilità, era semplice e veloce da eseguire ed era caratterizzata dalle più elevate correlazioni, sia con l'acido ascorbico che con i fenoli totali. Anche Guo et al. (2003) selezionarono, tra le differenti metodologie, il FRAP per valutare la capacità antiossidante della buccia, della polpa e della frazione dei semi in numerosi frutti. Allo stesso modo, Halvorsen et al. (2002) elessero il FRAP come il metodo migliore per determinare l'attività antiossidante di frutta e verdura, in quanto il FRAP è il solo metodo che misura direttamente gli antiossidanti o i riducenti nel campione, a differenza degli

altri saggi che si dimostrano più indiretti, in quanto misurano l'inibizione delle specie reattive (radicali liberi) generate nelle miscele di reazione. Inoltre, i risultati derivanti dalle altre metodologie dipendono fortemente dal solvente usato per l'estrazione. Il FRAP usa gli antiossidanti del campione come riducenti in una reazione redox colorimetrica.

In questa tesi sperimentale, la capacità antiossidante totale, definita come il prodotto della concentrazione molare e dell'efficienza antiossidante (Benzie e Stain, 1996), è stata saggiata tramite l'uso del metodo FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).

Per l'estrazione si seguiva il protocollo proposto da Kang e Saltveit (2002) con opportune modifiche (Tavarini et al., 2007). Si prendevano 4 g di polpa, si estraevano con 10 mL di metanolo per HPLC e quindi si centrifugava alla velocità di 15000g per 15 minuti alla temperatura di 20°C. Il surnatante così ottenuto era utilizzato per le analisi.

Il metodo si basa sulla capacità degli antiossidanti contenuti nel campione di ridurre il complesso Fe^{3+} /tripiridiltriazina, presente in eccesso stechiometrico, alla forma Fe^{2+} , caratterizzata da una tipica colorazione blu, con conseguente aumento dell'assorbanza a 593 nm. La differenza è proporzionale al potere antiossidante ferro-riducente totale degli antiossidanti del campione. Tale metodo ha un limite di rivelazione minore di $2 \mu\text{mol L}^{-1}$ di potere antiossidante-riducente ed una precisione eccellente (Benzie e Szeto, 1999).

Per la determinazione della capacità antiossidante dei campioni di pesca e kiwi, alla quantità di 0,9 mL dell'estratto erano aggiunti 0,1 mL della miscela costituita da 2,4,6-tripiridil-2-triazina 1mM e clorato di ferro 2mM sciolto in sodio acetato 0,25M pH 3,6. La miscela così costituita era lasciata incubare a 20°C per 4 minuti, dopodiché si effettuava la lettura dell'assorbanza allo spettrofotometro, alla lunghezza d'onda di 593 nm. Per il calcolo del valore della capacità antiossidante, era utilizzata una curva di taratura, ottenuta dall'assorbanza di concentrazioni note di solfato ferroso (50-1000 μM) (Benzie e Stain, 1996). Il valore finale del contenuto in FRAP era espresso in $\text{mmol Fe}^{2+}/100\text{g}$ di peso fresco.

3.3.2. Determinazione del contenuto in composti fenolici

Per la determinazione del contenuto in fenoli nella prova relativa ai frutti di kiwi nel corso dei tre anni di Dottorato e in quella dei frutti di pesco dei primi due anni è stato utilizzato il metodo del Folin-Ciocalteu. Per le prove condotte sul pesco nell'ultimo anno, il contenuto degli acidi idrossicinnamici, delle antocianine e delle procianidine è stato determinato tramite HPLC.

3.3.2.1. Folin-Ciocalteu

Il protocollo seguito era quello riportato da Dewanto et al. (2002). Questo metodo viene comunemente utilizzato per la determinazione dei composti fenolici ed utilizza lo stesso estratto ottenuto per la determinazione della capacità antiossidante. Il saggio del Folin-Ciocalteu si basa sulla riduzione del reagente da parte dei fenoli presenti nell'estratto, con concomitante formazione di un complesso blu.

Un'aliquota di 125 μ L del surnatante (diluito 1:5) era miscelata con 125 μ L del reagente Folin-Ciocalteu per 6 minuti, dopodiché erano aggiunti 1,25 mL di NaCO_3 al 7% (p/v). La miscela di reazione era incubata per 90 minuti alla temperatura di 20°C. Al termine dell'incubazione si leggeva l'assorbanza alla lunghezza d'onda di 760 nm. Per il calcolo, era utilizzata una curva di taratura costruita con concentrazioni note di acido gallico (3-90 μ g di acido gallico). Il valore del contenuto in fenoli totali era espresso come mg acido gallico/100 g di peso fresco.

3.3.2.2. Estrazione ed analisi dei composti fenolici (derivati dell'acido idrossicinnamico ed antocianine) mediante HPLC

Si estraevano 2 grammi di campione liofilizzato e polverizzato con 20 mL di solvente d'estrazione costituito da acetone:acqua:acido acetico in rapporto di 70:29,5:0,5. Si omogeneizzava il tutto tramite un ultraturrax per circa 30 secondi; l'omogenato così ottenuto era posto a sonicare per 15 minuti a temperatura ambiente. Successivamente si centrifugava a 2000 rpm per 10 minuti a 2-5°C. Al termine, il surnatante ottenuto era evaporato a 35°C sotto vuoto attraverso per un rotavapor per eliminare l'acetone. Il

residuo acquoso era filtrato attraverso filtri Sep-Pack C₁₈ precedentemente attivati (l'attivazione prevedeva il passaggio di 10 mL di acqua, 10 mL di metanolo e 10 mL d'aria attraverso il filtro). Il filtrato era poi diluito con 8 mL di metanolo. Per eliminare il metanolo, era necessaria una nuova evaporazione a 35°C sotto vuoto. A questo punto, il surnatante evaporato, dopo l'aggiunta di 1 mL del solvente d'estrazione, era filtrato con filtri 0,45 µm ed analizzato con l'HPLC-DAD (Diode Array Detector) in fase reversa. L'estratto pronto per l'analisi con HPLC non poteva essere conservato per un periodo di tempo superiore alle 24 ore.

Campioni di 20 µL di estratto erano analizzati utilizzando un sistema HPLC (Merck Hitachi, Tokyo, Japan), equipaggiato con una pompa modello L-7100 ed un fotodiodo con detector UV/vis modello L-7455 (**Figura 3.1**).

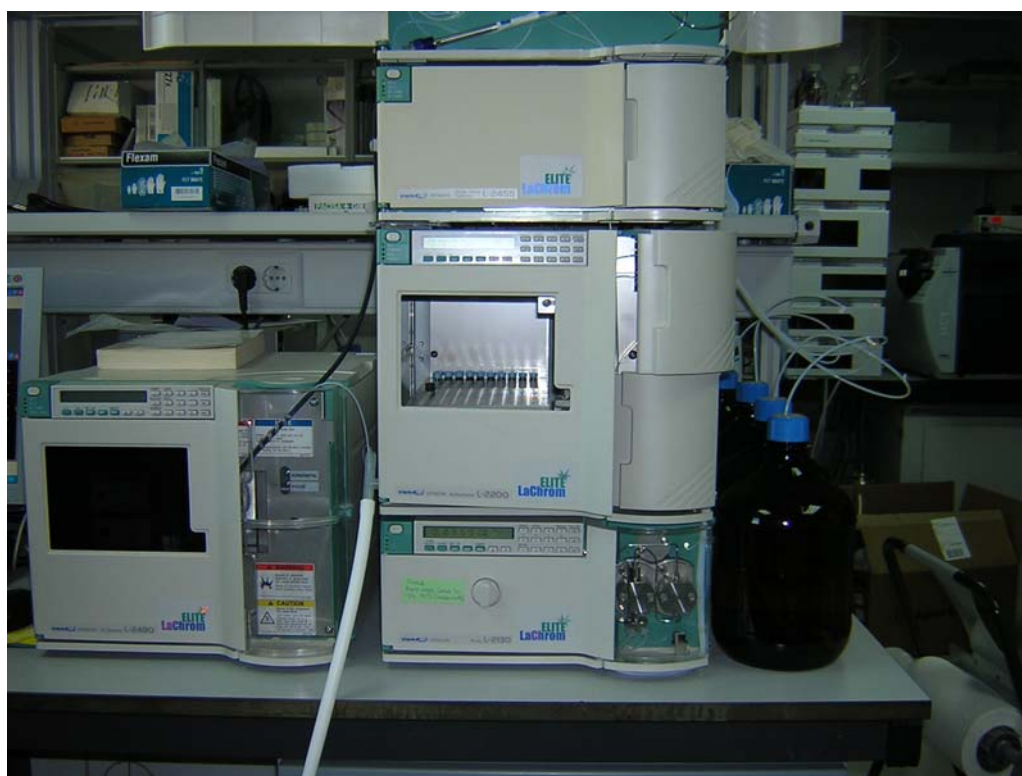


Figura. 3.1. HPLC-DAD (Merck Hitachi, Tokyo, Japan), dotata di pompa modello L-7100 e di un fotodiodo con detector UV/vis modello L-7455.

I campioni erano iniettati attraverso un auto-campionatore modello L-7200. La separazione era eseguita su una colonna LiChrocart C18 (Merck, Darmstadt, Germany) da 250 mm x 4 mm i.d., 5µm in fase reversa, con acqua/acido formico (95:5, v/v) (A) e metanolo (B) come fasi mobili.

L'aggiunta dell'acido formico aveva lo scopo di aumentare il picco di risoluzione.

Il gradiente lineare iniziava con 3% B, a 5 min 5% B, a 10 min 8% B, a 15 min 13% B, a 19 min 15% B, a 47 min 40% B, a 64 min 65% B, a 66 min 98% B, a 69 min 98% B e a 70 min 3% B. la velocità del flusso era di 1mL/min ed i cromato grammi erano registrati a 320 (per i derivati dell'acido idrossicinnamico) e 510 nm (per le antocianine). Le antocianine erano quantificate attraverso la comparazione con uno standard esterno di cianidina 3-rutinoside a 510 nm ed i derivati dell'acido idrossicinnamico erano quantificati come acido clorogenico a 320 nm. I risultati erano espressi come mg per kg di peso fresco.

I composti fenolici erano identificati attraverso il loro spettro UV, registrato con un HPLC-MS diode-array detector (electrospray) e, laddove possibile, attraverso la comparazione con markers autentici.

3.3.2.3. Estrazione ed analisi delle proantocianidine attraverso HPLC

L'analisi delle proantocianidine era condotta in presenza di un eccesso di floroglucinolo (Kennedy e Jones, 2001). L'analisi delle proantocianidine, dopo rottura a seguito di catalisi acida, fornisce informazioni sulla composizione delle sub-unità che costituiscono la molecola e sulla posizione dei legami inter-flavonoidi. È possibile determinare la composizione delle sub-unità delle proantocianidine a causa della relativa facilità con il quale il legame tra i flavonoidi è rotto; in condizioni acide, le proantocianidine vengono depolimerizzate, rilasciando le sub-unità terminali come i monomeri flavan-3-olo e le estensioni di sub-unità come gli intermedi elettrofili del flavan-3-olo. Gli intermedi elettrofili possono essere intrappolati da un reagente nucleofilo per generare addotti analizzabili. I due reagenti nucleofili più comunemente utilizzati sono il floroglucinolo ed il benzil-mercaptano. Il floroglucinolo presenta numerosi vantaggi potenziali, rispetto al benzil-mercaptano: è inodore, non richiede speciali accorgimenti nell'uso ed è caratterizzato da una maggiore selettività nella formazione degli addotti 3,4-*trans* a partire dai 2,3-*trans* flavan 3-oli.

Erano estratti 50 mg di materiale vegetale liofilizzato in un vial da 5 mL con 800 μ L della soluzione costituita da floroglucinolo, acido ascorbico e metanolo per HPLC. Successivamente, erano aggiunti 400 μ L della soluzione metanolo-HCl ed i vials, chiusi con parafilm, venivano incubati e mantenuti in agitazione a 50°C per 30 minuti. La reazione era stoppata con 5 volumi di una soluzione acquosa di sodio acetato 40 mM. Gli estratti erano filtrati con filtri 0,45 μ m ed analizzati attraverso HPLC.

Gli addotti di floroglucinolo erano analizzati attraverso HPLC in fase reversa, con un detector a fluorescenza (FLD). Campioni di 50 μ L di estratto erano analizzati utilizzando un sistema HPLC (Merck Hitachi, Tokyo, Japan), dotato di una pompa modello L-7100 ed un detector DAD (photodiode array detector) UV/vis, modello L-7455. I campioni erano iniettati attraverso un auto-campionatore modello L-7200. La separazione era eseguita tramite una colonna LiChrocart C18 (Merck, Darmstadt, Germany), 250 mm x 4 mm i.d., 5 μ m, in fase reversa.

La fase mobile di acqua/acido acetico (99:1, v/v) (A) e metanolo (B). L'eluizione era ottenuta usando il seguente gradiente: 5% B per 10 min, un gradiente lineare da 5 a 20% B in 20 min; un gradiente lineare da 20 a 40% B in 25 min. La colonna era lavata con 90% B per 10 minuti e riequilibrata con 5% B prima della corsa successiva. La velocità del flusso era di 1 mL/min ed i cromatogrammi erano ottenuti tramite rivelazione in fluorescenza, con eccitazione a 276 nm ed emissione a 316 nm. Le procianidine erano quantificate attraverso comparazione con uno standard di catechina. I risultati erano espressi come mg per kg di peso fresco. Era calcolato anche il grado di polimerizzazione (DP) come rapporto tra la somma delle aree registrate a 280 nm e l'area del picco della catechina.

3.3.3. Determinazione del contenuto in vitamina C

Per l'analisi del contenuto in acido ascorbico (ASA) e deidroascorbico (DHA) la procedura utilizzata era quella riportata da Degl'Innocenti et al. (2005), basata sul protocollo proposto da Kampfenkel et al. (1995).

Il materiale vegetale (0,5-0,6 g di polpa), congelato in azoto liquido e conservato a -80°C fino al momento dell'analisi, era omogeneizzato con 0,8 mL di acido tricloroacetico (TCA) al 6% (p/v), mantenuto in ghiaccio

per 15 minuti e portato ad un volume di 2 mL con TCA al 6%. L'omogenato veniva quindi centrifugato a 15600g per 10 minuti a 4°C. Il surnatante ottenuto era utilizzato per la determinazione dell'acido ascorbico e dell'acido ascorbico totale (ASA_{TOT}).

L'ASA_{TOT} era determinato dopo la riduzione del DHA ad ASA mediante incubazione con ditiotreitolo (DTT) 10 mM; l'eccesso di DTT veniva rimosso con l'aggiunta di N-etilmaleimide (NEM) 0,5% (p/v). La concentrazione di DHA veniva misurata come differenza tra il contenuto di ASA_{TOT} ed il contenuto di ASA.

La miscela di reazione era costituita da 200 µL di surnatante, 600 µL di fosfato buffer 0,2 M (pH 7,4), 200 µL di acqua distillata, 1000 µL di TCA al 10% (p/v), 800 µL di H₃PO₄ al 42%, 800 µL di 2,2'-dipiridil al 4% e 400 µL di FeCl₃ al 3%. La miscela era incubata per 40 minuti alla temperatura di 42°C; al termine dell'incubazione, si procedeva alla lettura allo spettrofotometro dei campioni, ad una lunghezza d'onda di 525 nm, che rappresenta il picco massimo di assorbimento del complesso Fe²⁺-2,2'-dipiridil formatosi.

Per il calcolo dell'ASA e dell'ASA_{TOT} si faceva riferimento alla curva di taratura dell'acido ascorbico, precedentemente determinata e che correlava le concentrazioni note di ASA (nel range di 0,05-10 µM) alle relative assorbanze.

Il risultato finale era espresso come mg acido ascorbico/100 g di peso fresco.

3.3.4. Determinazione del contenuto in pigmenti

Per la determinazione del contenuto in clorofilla e carotenoidi, 1 g di peso fresco di polpa era omogeneizzato con 1,5 mL di acetone all'80% (v:v). Dal momento che l'acetone è un solvente estremamente volatile, si procedeva immediatamente alla lettura dell'estratto allo spettrofotometro. Per l'analisi spettrofotometrica, 150 µL di estratto e 850 µL di acetone erano posti in cuvette da 1 mL; il bianco utilizzato nelle letture era costituito da solo acetone all'80% in volume. A questo punto si procedeva alla lettura dell'assorbanza a diverse lunghezze d'onda, a seconda del

pigmento: 663,2 nm per la clorofilla *a* (Chl *a*), 648,8 nm per la clorofilla *b* (Chl *b*) e 470 nm per i carotenoidi.

I valori di assorbanza ottenuti, erano inserite nelle formule proposte da Porra et al. (1989), così da calcolare le concentrazioni in $\mu\text{g mL}^{-1}$:

- $\text{Chl } a \text{ (}\mu\text{g mL}^{-1}\text{)} = (12,25 \times A^{663,2}) - (2,79 \times A^{648,8})$
- $\text{Chl } b \text{ (}\mu\text{g mL}^{-1}\text{)} = (21,50 \times A^{648,8}) - (5,10 \times A^{663,2})$
- $\text{Chl totali (}\mu\text{g mL}^{-1}\text{)} = (17,67 \times A^{648,8}) + (7,12 \times A^{663,2})$
- $\text{Carotenoidi (}\mu\text{g mL}^{-1}\text{)} = [(1000 \times A^{470}) - (1,82 \times \text{Chl } a) - (85,02 \times \text{Chl } b)] / 198.$

3.4. Enzimi coinvolti nel fenomeno del *softening*

Durante la maturazione dei frutti, si verificano una serie di processi complessi, geneticamente programmati e numerose alterazioni fisiologiche, biochimiche e strutturali: aumento della velocità di respirazione, sintesi di etilene, cambiamenti nelle caratteristiche qualitative e *softening* (rammollimento) dei frutti. Quest'ultimo processo è dovuto a cambiamenti strutturali a carico della parete cellulare, quali la riduzione delle emicellulose, la perdita di galattosio e la solubilizzazione e depolimerizzazione della pectina (Fisher e Bennett, 1991). È noto come molti fattori siano in grado di influenzare la velocità del *softening* nei frutti di kiwi; tra questi fattori, il grado di maturità alla raccolta gioca un ruolo fondamentale (Harman, 1981). Il processo del *softening* nei frutti è il risultato di un'idrolisi enzimatica della parete cellulare. Ci sono più enzimi coinvolti in questo processo: l'eso-poligalatturonasi (PG; E.C. 3.2.1.67), la pectin metil esterasi (PME; E.C. 3.1.1.11) e la β -galattosidasi (β -Gal; E.C. 3.2.1.23). Il coinvolgimento delle PG nel *softening* del kiwi è stato riportato da alcuni autori (Bonghi et al., 1996; Soda et al., 1986), così come l'attività delle β -Gal (Bonghi et al., 1996; Ogawa et al., 1990). Tuttavia, il ruolo di questi enzimi non è stato ancora del tutto definito e la loro importanza nel controllo del turnover della parete cellulare rimane poco chiaro sia nel kiwi che in altri frutti. Certamente, un *softening* prematuro è un fattore limitante per la conservazione dei frutti (Hewett et al., 1999) e molti fattori

ambientali e numerose pratiche colturali possono influenzare la velocità di tale fenomeno (Harman, 1981; Madakadze e Kwaramba, 2004).

3.4.1. Estrazione e determinazione dell'attività della β -galattosidasi

L'estrazione delle β -Gal e delle PG era condotta sulla base del metodo riportato da Lazan et al. (1989). Cinque grammi di polpa del frutto fresco erano omogeneizzati con 20 mL di citrato buffer 0,1 M, pH 4,6, contenente NaCl 1 M, acido etilendiaminotetracetico (EDTA) 13 mM, β -mercaptanolo (β -Mesh) 10 mM e polivinilpirrolidone (PVP) all'1% (peso/volume). Si centrifugava il tutto a 15000g per 30 minuti; un'aliquota del surnatante ottenuto era desalificato attraverso una colonna Sephadex G-25 (1 cm x 10 cm) prima di eseguire il saggio delle attività dei due enzimi.

L'attività della β -galattosidasi era saggiata in accordo alla procedura proposta da Pressey (1983). La miscela di reazione era costituita da sodio citrato 0,1 M pH 4, da albumina di siero bovino allo 0,1% (peso/volume), da *p*-nitrofenil- β -D-galattopiranoside 13 mM e da 100 μ L di estratto enzimatico desalificato, in un volume totale di 1,4 mL. L'attività dell'enzima era saggiata alla temperatura di 37°C per 15 minuti e la reazione era bloccata attraverso l'aggiunta di 2 mL di sodio carbonato 0,2 M alla miscela di reazione. La quantità di *p*-nitrofenolo formato era misurata a seguito della lettura dell'assorbanza a 415 nm e l'uso di una retta di taratura, precedentemente costruita sulla base delle assorbanze di concentrazioni note di *p*-nitrofenolo.

I valori dell'attività della β -galattosidasi erano espressi come mmol di *p*-nitrofenolo formato $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ di proteina.

3.4.2. Estrazione e determinazione dell'attività delle poligalatturonasi

L'attività delle poligalatturonasi era saggiata in accordo alla procedura proposta da Ali e Bardy (1982). La miscela di reazione per la determinazione dell'attività delle PG era così costituita: acido poligalatturonico all'1% (peso/volume), sodio acetato buffer 37,5 mM (pH 4,5) e 200 μ L di estratto desalificato tramite colonna, in un volume totale di 1 mL. La miscela di reazione era incubata per 3 ore alla temperatura di

30°C, dopodiché la reazione era bloccata attraverso l'aggiunta di borato buffer 100 mM, pH 9,0. A questo punto, era aggiunta 2-cianoacetoammide all'1% (volume/volume) ed i campioni erano mescolati e immersi in acqua bollente per 10 minuti. Dopo il raggiungimento dell'equilibrio a 25°C, si determinavano i valori dell'assorbanza a 276 nm.

I valori dell'attività delle PG erano espressi come moli di gruppi riducenti rilasciati $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ di proteine.

La determinazione della concentrazione delle proteine era condotta in accordo al metodo proposto da Lowry et al. (1951).

3.5. Analisi statistica dei dati

Poiché i dati sono stati sottoposti ad analisi statistica diversa a seconda del piano sperimentale adottato, verranno trattati separatamente.

3.5.1. *Actinidia deliciosa* (A.Chev.) C.F. Liang & A.R. Ferguson, cv. Hayward

3.5.1.1. *Dati primo anno*

I dati derivanti dalla prima prova del primo anno erano sottoposti all'analisi della varianza (ANOVA) a due vie, con l'epoca di raccolta e la conservazione a temperatura ambiente come fonti di variabilità. Le medie venivano quindi comparate utilizzando la differenza minima significativa (DMS) per $P=0,05$.

Anche i risultati della seconda prova, relativi al contenuto in acido ascorbico e clorofilla, all'SSC, alla FF e al PF, erano sottoposti all'analisi della varianza a due vie, con le differenti posizioni nella chioma (interno ed esterno; alto e basso) come fattori di variabilità. Per il confronto tra le medie, era usato il test della DMS.

3.5.1.2. *Dati secondo anno*

I dati erano sottoposti all'analisi della varianza a due vie per determinare la significatività delle differenze tra i trattamenti, che consistevano nell'epoca di raccolta e nella conservazione. La differenza minima significativa era calcolata per il confronto tra le medie, laddove l'ANOVA si dimostrava significativa. Per determinare se esisteva o meno una

correlazione tra la capacità antiossidante totale ed i costituenti fitochimici analizzati, era condotta l'analisi della regressione lineare.

3.5.1.3. Dati terzo anno

I dati erano sottoposti all'ANOVA a due vie con la conservazione e posizione del frutto sulla chioma come fonti di variabilità; il confronto tra le medie era valutato mediante $DMS_{0,05}$. dati relativi alla consistenza della polpa e al contenuto in solidi solubili erano sottoposti all'ANOVA ad una via, con la conservazione come fattore di variabilità.

3.5.2. *Prunus persica* L. Batsch

3.5.2.1. Dati primo anno

Per quanto riguarda la prova dei portinnesti, i dati relativi alla capacità antiossidante totale, alla TA, all'SSC ed al contenuto in carotenoidi erano sottoposti all'analisi della varianza a due vie, con l'esposizione dei frutti alla luce (luce, penombra ed ombra) ed il tipo di portinnesto come fattori di variabilità. Le medie erano poi comparate con il test della DMS, per $P=0,05$. I dati relativi ai carotenoidi venivano correlati a quelli della capacità antiossidante totale mediante l'analisi della regressione lineare.

I dati relativi alla prova del confronto varietale erano sottoposti all'analisi della varianza ad una via, con il genotipo come fattore di variabilità. Il confronto tra le medie era condotto mediante il test della DMS ($P=0,005$). Per le varietà di pesche a polpa gialla, l'analisi della regressione era condotta tra la capacità antiossidante totale ed i diversi composti organici analizzati.

3.5.2.2. Dati secondo anno

I dati erano sottoposti all'ANOVA a due vie, al fine di determinare differenze significative tra i trattamenti: epoca di raccolta e tipo di portinnesto. La DMS al 5% era calcolata per comparare le differenze tra le medie. L'analisi della regressione lineare era determinata per valutare le correlazioni tra la capacità antiossidante ed i principali fitochimici studiati.

3.5.2.3. Dati terzo anno

I dati relativi alla prima prova (irrigazione e PI) erano sottoposti all'analisi della varianza a due vie, con lo stress idrico ed il tipo di portinnesto come fattori di variabilità. Il test della DMS al 5% era calcolato per confrontare le differenze tra le medie, a seguito di un'ANOVA significativa.

4. RISULTATI E DISCUSSIONE: *Actinidia deliciosa* (A.Chev.) C.F. Liang & A.R. Ferguson, cv. Hayward

4.1 Risultati primo anno

Il lavoro del primo anno si articolava in due prove preliminari distinte: la prima era finalizzata alla stima della capacità antiossidante e del contenuto in acido ascorbico e fenoli in funzione dell'epoca di raccolta e dell'esposizione dei frutti a temperatura ambiente dopo un prolungato periodo di frigoconservazione (5 mesi) in atmosfera controllata. Da ricordare che, in generale, la capacità antiossidante dei frutti freschi varia ampiamente per le diverse specie; tuttavia, è noto come il kiwi sia caratterizzato da un elevato potenziale antiossidante (Szeto et al., 2002). La seconda prova aveva come obiettivo la valutazione dell'influenza della posizione dei frutti sulla chioma sulle caratteristiche organolettiche (consistenza della polpa, contenuto in solidi solubili, peso fresco) e sul contenuto in acido ascorbico e clorofilla.

4.1.1. Prima Prova

4.1.1.1. Capacità antiossidante

In funzione dell'epoca di raccolta, non si registrava alcuna differenza significativa nella capacità antiossidante dei frutti di actinidia conservati in atmosfera controllata (AC) per 5 mesi. Infatti, come riportato nella **Figura 4.1**, il valore della capacità antiossidante totale era simile nei frutti raccolti alla maturazione commerciale (8 Novembre 2004) ed in quelli a maturazione tardiva (23 Novembre 2004), analizzati immediatamente dopo l'uscita dei frutti dalla cella frigorifera.

La successiva esposizione dei frutti a temperatura ambiente, dopo una frigoconservazione prolungata, determinava, invece, effetti negativi sulla capacità antiossidante che si riduceva significativamente ed indipendentemente dall'epoca di raccolta. I nostri dati rilevano un rapido decremento della capacità antiossidante nei frutti di kiwi, a seguito dell'esposizione a temperatura ambiente, dopo la conservazione in atmosfera controllata, soprattutto nei frutti raccolti tardivamente. Questo risultato conferma come le caratteristiche qualitative e nutrizionali dei frutti

siano negativamente influenzate dalle modalità di conservazione, nonché dalle operazioni unitarie eseguite nel periodo di post-raccolta (Lee e Kader, 2000).

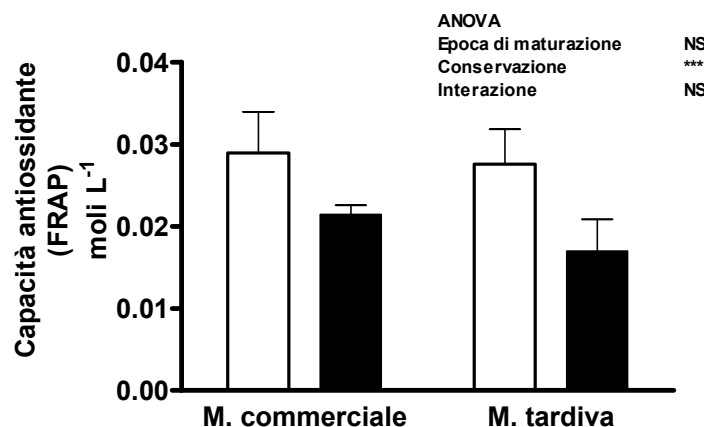


Figura 4.1. Capacità antiossidante in frutti di actinidia, conservati in AC per 5 mesi, in due differenti epoche di raccolta. Le barre bianche indicano la misura effettuata immediatamente al momento del prelievo del campione dalla cella AC, mentre le barre nere si riferiscono alla misura determinata dopo 7 giorni di esposizione a temperatura ed atmosfera ambiente. Ogni valore rappresenta la media di 6 repliche e la barra indica la deviazione standard. Le medie sono state sottoposte all'analisi dell'ANOVA a due vie con l'epoca di raccolta e la conservazione come fattori di variabilità. Nel grafico sono riportate le significatività del rapporto F relativo alle fonti di variabilità ed alla loro interazione. NS: $P > 0,05$; ***: $P < 0,001$.

4.1.1.2. Fenoli totali

Il contenuto in fenoli dei frutti di actinidia aumentava significativamente in funzione della maggiore permanenza dei frutti sulla pianta (**Figura 4.2**). Anche l'esposizione a temperatura ambiente per 7 giorni determinava un incremento significativo nel contenuto in fenoli dei frutti raccolti a maturazione commerciale a seguito della conservazione a temperatura ambiente per 7 giorni. Al contrario, nei frutti raccolti tardivamente, si osservava una riduzione significativa della concentrazione di tali composti.

L'aumento del contenuto in fenoli, registrato nei frutti di actinidia raccolti a maturazione commerciale durante la conservazione a temperatura ambiente, non era tuttavia responsabile di un aumento della capacità antiossidante che, come visto in precedenza, si riduceva significativamente.

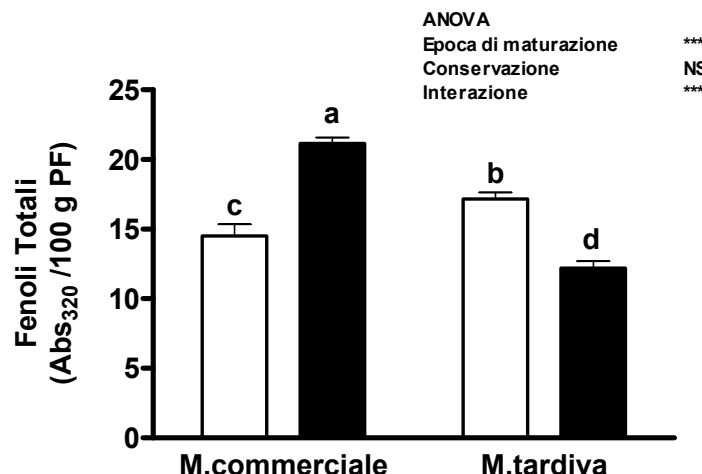


Figura 4.2. Contenuto in fenoli totali in frutti di actinidia, conservati in AC per 5 mesi, in due differenti epoche di raccolta. Le barre bianche indicano la misura effettuata immediatamente al momento del prelievo del campione dalla cella AC, mentre le barre nere si riferiscono alla misura determinata dopo 7 giorni di esposizione a temperatura ed atmosfera ambiente. Ogni valore rappresenta la media di 6 repliche e la barra indica la deviazione standard. Le medie sono state sottoposte all'analisi dell'ANOVA a due vie con l'epoca di raccolta e la conservazione come fattori di variabilità. Nel grafico sono riportate le significatività del rapporto F relativo alle fonti di variabilità ed alla loro interazione. NS: $P > 0,05$; ***: $P < 0,001$.

4.1.1.3. Acido Ascorbico

È noto come il composto organico che contribuisce in maggior misura alla capacità antiossidante totale del kiwi sia rappresentato dall'acido ascorbico che è particolarmente abbondante nelle cellule della polpa verde (Scalzo et al., 2005).

Come appare evidente dalla **Tabella 4.1.**, l'epoca di raccolta influenzava notevolmente le caratteristiche qualitative dei frutti al termine della conservazione in atmosfera controllata. La vitamina C si riduceva significativamente in funzione dell'epoca di raccolta ed i valori più bassi venivano registrati nei frutti raccolti in epoca tardiva. In quelli raccolti a maturazione commerciale, si registrava un incremento nei valori di ASA_{TOT} a seguito della conservazione dei frutti di kiwi per 7 giorni a temperatura ambiente; tale aumento non era invece significativo nei frutti raccolti tardivamente.

I risultati ottenuti sembrano in contrasto con quanto riportato da Lee e Kader (2000), i quali indicavano come lo stadio di maturazione fisiologica dei frutti fosse uno dei principali fattori in grado di influenzare la qualità. Questi autori osservarono che, in generale, nei frutti, il contenuto in acido ascorbico aumentava durante la maturazione ed in particolare,

questo incremento era evidente nei frutti lasciati a maturare sull'albero. I nostri risultati, invece, evidenziano come l'ASA aumenti principalmente nei frutti raccolti a maturazione commerciale, conservati in AC e successivamente mantenuti a temperatura ambiente per 7 giorni.

Tabella 4.1. Contenuto in acido ascorbico (ASA), deidroascorbico (DHA) ed ascorbico totale (ASA_{TOT}) in frutti di actinidia raccolti in due differenti epoche e a diversi tempi (0 e 7 giorni) di esposizione a temperatura ed atmosfera ambiente (AN), al termine della frigoconservazione. Ogni valore rappresenta la media di 4 repliche (\pm deviazione standard). Le medie seguite da lettere uguali non sono significativamente differenti per $P=0,05$, a seguito dell'analisi dell'ANOVA a due vie con l'epoca di raccolta e la conservazione come fattori di variabilità.

| Epoca di raccolta | Esposizione ad AN (giorni) | ASA (mg/100g PF) | DHA (mg/100g PF) | ASA _{TOT} (mg/100g PF) |
|-------------------------|----------------------------|------------------|------------------|---------------------------------|
| Maturazione commerciale | 0 | 47,1 a (8,33) | 2,4 b (0,48) | 49,4 b (7,19) |
| | 7 | 55,1 a (8,15) | 9,7 a (2,83) | 64,9 a (2,49) |
| Maturazione tardiva | 0 | 31,9 a (2,19) | 2,8 b (0,06) | 34,7 c (2,01) |
| | 7 | 38,1 a (1,67) | 2,4 b (1,44) | 40,4 bc (1,41) |

D'altra parte, altri autori (Slaughter e Crisosto, 1998) evidenziavano come, nel kiwi, l'epoca di raccolta rappresentasse un importante elemento per le caratteristiche organolettiche durante la conservazione post-raccolta. Secondo questi autori, la raccolta precoce dei frutti determinava una minore qualità, mentre una raccolta tardiva induceva il rammollimento dei frutti e riduceva, di conseguenza, il periodo di conservazione in atmosfera controllata.

I nostri risultati dimostravano, perciò, come l'epoca di raccolta incidesse notevolmente sul contenuto in vitamina C; in particolare, ritardando la raccolta si determinava una significativa riduzione. Un ritardo eccessivo nella raccolta può, pertanto, determinare un minor valore salutistico di frutti di kiwi, conservati in cella frigorifera per un periodo di tempo prolungato.

Così come per i fenoli, anche le analisi del contenuto in acido ascorbico sembravano discordanti a quelle relative alla capacità antiossidante che, come precedentemente descritto, si riduceva significativamente a seguito dell'esposizione a temperatura ed atmosfera ambiente.

4.1.1.4. Contributo percentuale dell'acido ascorbico alla capacità antiossidante

Per meglio caratterizzare il coinvolgimento dell'acido ascorbico nel determinare la capacità antiossidante dei frutti di kiwi, è stato stimato il contributo percentuale dell'acido ascorbico alla capacità antiossidante totale (**Tabella 4.2.**).

Tabella 4.2. Contributo percentuale dell'ASA alla capacità antiossidante in frutti di actinidia in due differenti epoche di raccolta e a diversi tempi di esposizione a temperatura ambiente, al termine della conservazione frigorifera in AC per 5 mesi. Ogni valore rappresenta la media di 4 repliche.

| Epoca di raccolta | Esposizione ad AN (giorni) | Contributo (%) dell'ASA alla capacità antiossidante totale |
|-------------------------|-------------------------------|--|
| Maturazione commerciale | 0 | 16,97 |
| | 7 | 29,52 |
| Maturazione tardiva | 0 | 12,41 |
| | 7 | 23,83 |

I risultati dimostravano che, nel caso dei frutti raccolti a maturazione commerciale, l'acido ascorbico contribuiva per il 17% alla capacità antiossidante, mentre in quelli raccolti tardivamente per il 12%. L'esposizione dei frutti a temperatura ambiente determinava un incremento del contributo dell'ASA alla capacità antiossidante. I dati relativi al contributo dell'ASA alla capacità antiossidante erano comunque simili a quelli riportati da Guo et al. (2003).

4.1.2. Seconda Prova

4.1.2.1. Caratteristiche organolettiche

L'esposizione alla luce influenzava il livello di maturazione e le caratteristiche organolettiche (consistenza della polpa, peso fresco e contenuto in solidi solubili) dei frutti di actinidia (**Tabella 4.3**). Il peso fresco dei frutti posizionati sia internamente che esternamente nella parte alta della chioma era maggiore rispetto a quello dei frutti bassi, mentre non erano registrate differenze significative nella consistenza della polpa. Risultati simili erano ottenuti anche da Pyke et al. (1996).

Il contenuto in solidi solubili era significativamente più alto nei frutti posizionati nella parte alta della chioma, sia internamente che

esternamente, rispetto a quelli bassi. Risultati simili erano trovati anche da altri autori; ad esempio, Biasi et al. (1997) osservarono che la quantità di radiazione solare intercettata influenzava importanti parametri come il contenuto in solidi solubili. D'altra parte questo parametro indica la concentrazione dei composti organici solubili che certamente vengono sintetizzate in maggiore misura nei frutti direttamente esposti alla radiazione solare.

Tabella 4.3. Influenza della posizione sulla chioma sui parametri di maturazione e sugli indici di qualità (peso fresco, consistenza della polpa e contenuto in solidi solubili) in frutti di kiwi. Ciascun valore rappresenta la media di 10 repliche. Medie seguite da lettere uguali non erano significativamente differenti per $P = 0.05$, a seguito dell'analisi dell'ANOVA a due vie.

| | Peso (g) | Consistenza della polpa (kg) | Contenuto in solidi solubili (°Brix) |
|---------------|-----------------|-------------------------------------|---|
| Esterno alto | 118.5 a | 5.1 a | 8.0 a |
| Interno alto | 119.1 a | 5.0 a | 7.9 a |
| Esterno basso | 108.9 b | 4.5 a | 7.3 ab |
| Interno basso | 107.8 b | 4.7 a | 6.7 b |

4.1.2.2. Clorofilla totale ed acido ascorbico

La posizione dei frutti sulla chioma e, conseguentemente, la diversa esposizione dei frutti alla luce influenzava significativamente il contenuto in clorofilla totale (**Figura 4.3**) ed in vitamina C (**Figura 4.4**). Il contenuto in clorofilla totale rappresenta un'importante caratteristica organolettica in quanto è responsabile della colorazione verde della polpa dei frutti, parametro questo certamente alla base delle scelte del consumatore (Nishiyama et al., 2005). Il contenuto in clorofilla mostrava i valori più elevati nei frutti esposti esternamente, nella parte più alta della chioma, mentre i valori più bassi erano registrati nei frutti interni e bassi della chioma (**Figura 4.3**). E' noto, d'altra parte, come la biosintesi della clorofilla sia fortemente influenzata dalla quantità di luce disponibile per i tessuti vegetali della pianta.

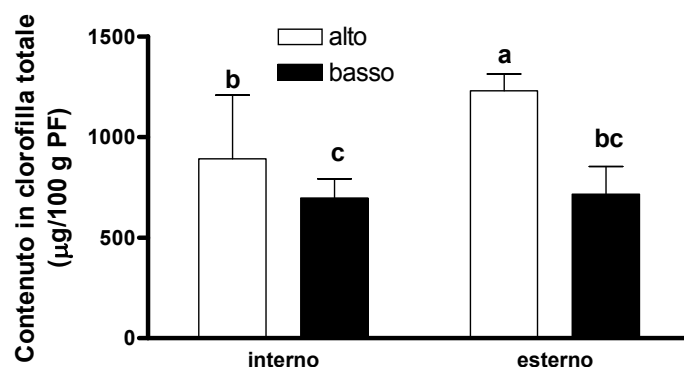


Figura 4.3. Contenuto totale di clorofilla in frutti di *Actinidia deliciosa*, diversamente esposti sulla chioma. Ciascun valore è la media di tre repliche. Le barre indicano la deviazione standard. Medie seguite da lettere uguali non sono significativamente differenti per $P=0,05$, a seguito dell'analisi dell'ANOVA a due vie.

I frutti raccolti dalla porzione esterna ed alta della chioma mostravano anche i valori più alti di vitamina C, se comparati con quelli registrati nei frutti posizionati in basso ed all'interno della vegetazione (Figura 4.4).

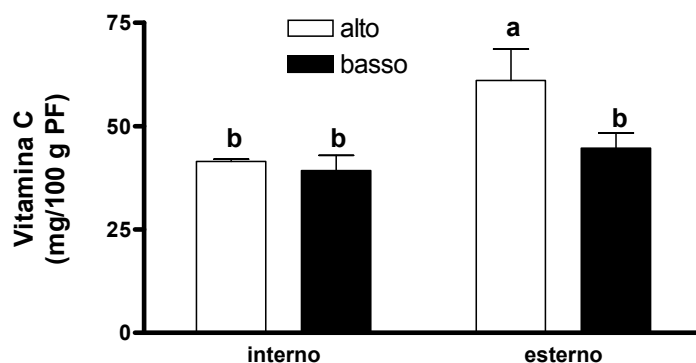


Figura 4.4. Contenuto in vitamina C in frutti di *Actinidia deliciosa*, diversamente esposti sulla chioma. Ciascun valore è la media di tre repliche. Le barre indicano la deviazione standard. Medie seguite da lettere uguali non sono significativamente differenti per $P=0,05$, a seguito dell'analisi dell'ANOVA a due vie.

Questi risultati sono di grande interesse per la qualità dei frutti in quanto un incremento della concentrazione di vitamina C e del colore verde attrattivo della polpa rappresentano importanti elementi in grado di contribuire alla qualità totale del kiwi. L'effetto della posizione del frutto sulla chioma era certamente dovuto al diverso grado di radiazione luminosa intercettato e, in tal senso, Harris (1975) mostrava che frutti

esposti alla massima radiazione solare presentavano le quantità maggiori di vitamina C.

I risultati ottenuti sottolineano l'importante ruolo dell'esposizione alla luce sulle caratteristiche qualitative e nutrizionali dei frutti di kiwi. La luce e la posizione del frutto sulla pianta sono fattori di primaria importanza per la qualità dei frutti. Klein e Perry (1982) mostravano come la luce e la temperatura influenzassero significativamente la composizione chimica di molte specie orticole. Sebbene la luce non sia essenziale per la sintesi dell'acido ascorbico nelle piante, la quantità e l'intensità della radiazione durante la stagione di crescita ha un'influenza indiretta sulla quantità di acido ascorbico sintetizzato dato che esso deriva dal glucosio prodotti durante il processo fotosintetico. L'ombreggiamento all'interno della chioma può determinare significative riduzioni nella qualità dei frutti di molte specie. Inoltre, la luce può anche influenzare la composizione minerale di un frutto ed il potenziale di trasporto dei nutrienti attraverso il flusso traspiratorio (Montanaro et al., 2006), nonché la biosintesi dei fenoli nel kiwi.

4.2 Risultati secondo anno

La prova del secondo anno si poneva lo scopo di valutare gli effetti dell'epoca di raccolta (a maturazione commerciale e a maturazione tardiva) e delle modalità di conservazione (in cella frigorifera per 2 o 6 mesi e successivamente a temperatura ambiente per una settimana) sulla consistenza della polpa, sul contenuto in solidi solubili e su alcuni importanti attributi di qualità del frutto di kiwi, quali il contenuto in vitamina C, fenoli totali e carotenoidi e la capacità antiossidante totale.

4.2.1. Caratteristiche organolettiche

In **Tabella 4.4** vengono riportati i valori relativi al contenuto in solidi solubili e alla consistenza della polpa dei frutti di kiwi, in funzione dell'epoca di raccolta e della conservazione.

La consistenza della polpa diminuiva significativamente durante la conservazione, indipendentemente dall'epoca di raccolta: i valori più bassi

si registravano nei frutti mantenuti a temperatura ambiente per una settimana, dopo 6 mesi di frigoconservazione (**Tabella 4.4**).

Tabella 4.4. Consistenza della polpa (Kg) e contenuto in solidi solubili (SSC) in frutti di kiwi raccolti in due differenti epoche (raccolta commerciale T1: 17-11-2005, e raccolta tardiva T2: 24-11-2005) e conservati per 2 (S1) e 6 (S2) mesi. Alla fine dei 2 periodi di frigoconservazione, i frutti erano mantenuti per 7 giorni a 25°C (S1+7gg e S2+7gg). Ciascun valore rappresenta la media di 5 repliche \pm deviazione standard. Per le due epoche di raccolta T1 e T2, medie seguite da lettere uguali non sono significativamente differenti $P=0,05$.

| | FF (kg) | | SSC (°Brix) | |
|----------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| | T1 | T2 | T1 | T2 |
| Raccolta | 5.89 \pm 0.80 a | 4.68 \pm 0.19 a | 8.3 \pm 0.89 b | 10.4 \pm 0.13 b |
| S1 | 1.30 \pm 0.09 b | 1.44 \pm 0.10 b | 14.3 \pm 0.40 a | 13.2 \pm 0.26 b |
| S1+7gg | 1.26 \pm 0.56 b | 1.36 \pm 0.71 b | 14.0 \pm 0.30 a | 14.0 \pm 0.67 a |
| S2 | 0.92 \pm 0.04 bc | 1.04 \pm 0.11 bc | 14.3 \pm 0.43 a | 13.6 \pm 0.23 b |
| S2+7gg | 0.32 \pm 0.01 c | 0.41 \pm 0.04 c | 14.6 \pm 0.98 | 13.8 \pm 0.34 b |

Crisosto e Kader (1999) riportavano che la raccolta tardiva del kiwi permetteva di mantenere una migliore consistenza della polpa durante la conservazione rispetto a frutti raccolti precedentemente. Anche nel nostro caso, i frutti raccolti a T2 mantenevano una migliore consistenza in confronto a quelli di T1 ($P<0,05$). Confrontando i nostri risultati con quelli di Crisosto e Kader (1999), è importante sottolineare come, nel nostro caso, la prima raccolta (T1) era eseguita quando i frutti erano vicini alla maturazione fisiologica (8°Brix). Inoltre, a S1 e S2, i kiwi mostravano chiaramente i classici sintomi del *softening*; questi sintomi aumentavano a seguito della permanenza dei frutti a temperatura ambiente per una settimana. Questi dati confermano l'influenza della temperatura sugli indici di qualità dei frutti, come riportato anche da altri autori. Infatti, Marsh et al. (2004) mostravano come il kiwi conservato a differenti temperature rammollisse; in particolare, questi autori notarono che i frutti conservati a 10° e 4° C erano caratterizzati da un *softening* più veloce rispetto ai frutti mantenuti a 0°C.

Il contenuto in solidi solubili del kiwi alla raccolta è considerato un indice della maturità del frutto ed un aumento del valore di SSC corrisponde alla conversione dell'amido in zuccheri solubili (MacRae et al, 1989). Nei frutti raccolti a T1 e conservati a 0°C per 2 mesi, il contenuto in

solidi solubili aumentava significativamente se comparati con i valori registrati al momento della raccolta (**Tabella 4.4**). La successiva conservazione (S1+7gg, S2 e S2 +7gg) non influenzava l'SSC, che rimaneva simile ai valori raggiunti alla fine della frigoconservazione per 2 mesi (**Tabella 4.4**). Un comportamento simile era osservato anche nei frutti raccolti a T2. Anche in questo caso, la frigoconservazione per 6 mesi non influenzava i valori di SSC e non si registrava nessuna variazione nella successiva settimana di mantenimento dei frutti a temperatura ambiente. Il contenuto in solidi solubili del kiwi è spesso ritenuto essere collegato alle preferenze del consumatore, sebbene non è stato dimostrato o registrato, in tal senso, uno stretto legame (McGlone e Kawano, 1998). I frutti caratterizzati da valori di SSC superiori ai 12°Brix sono comunque generalmente considerati soddisfare meglio le richieste del consumatore (Stec et al., 1989). Inoltre, i kiwi che possiedono un elevato SSC alla raccolta, si conservano meglio e mostrano un aroma soddisfacente al momento del consumo (Beever e Hopkirik, 1990).

4.2.2. Capacità antiossidante

La capacità antiossidante non era influenzata dall'epoca di raccolta (**Figura 4.5**). Nei frutti raccolti a T1, questo parametro diminuiva significativamente dopo 2 mesi di frigoconservazione (S1), dopodiché rimaneva costante nella successiva conservazione.

Anche i valori del FRAP dei frutti raccolti a T2 diminuivano significativamente dopo i 2 mesi di frigoconservazione, ma, in questi kiwi, la capacità antiossidante aumentava significativamente quando questi frutti erano mantenuti per una settimana a temperatura ambiente (**Figura 4.5**).

L'effetto negativo della frigoconservazione sulla capacità antiossidante era registrato anche nei frutti conservati per 6 mesi in cella frigorifera a 0°C. Comunque, anche in questi frutti, si osservava un incremento dei valori del FRAP a seguito del loro mantenimento a 25°C per una settimana, dopo l'uscita dalla cella (S2+7gg).

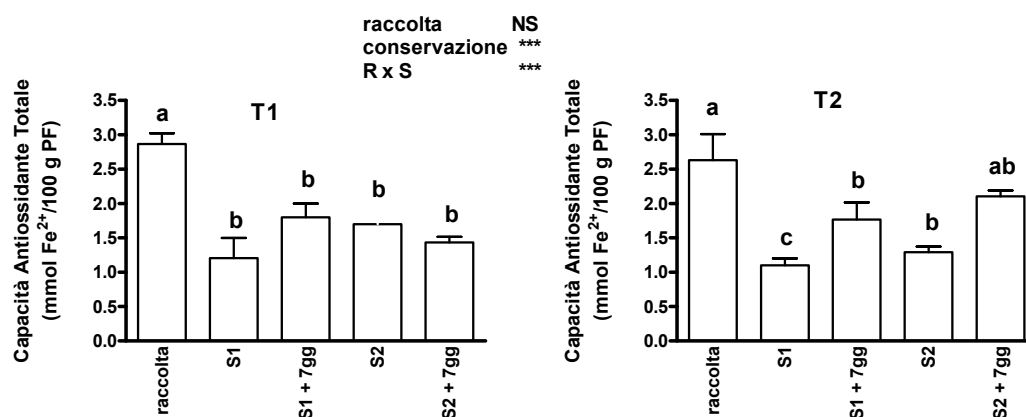


Figura 4.5. Capacità antiossidante in frutti di kiwi raccolti in 2 differenti epoche (T1: 17-11-2005, e T2: 24-11-2005) e conservati per 2 (S1) e 6 mesi (S2) a 0°C. Al termine dei 2 periodi di frigoconservazione, i frutti erano mantenuti per 7 giorni a 25°C (S1+7gg e S2+7gg, rispettivamente). Le barre rappresentano la media di 3 repliche con la deviazione standard. Per le 2 epoche T1 e T2, medie seguite da lettere uguali non sono significativamente differenti per $P=0,05$. Nel grafico sono riportati anche i risultati ottenuti dall'analisi dell'ANOVA a 2 vie, con l'epoca di raccolta e la conservazione come fattori di variabilità.

Da notare, tuttavia, che i valori più alti della capacità antiossidante totale erano registrati al momento della raccolta, indipendentemente dall'epoca. Questi risultati suggeriscono che la frigoconservazione influenzava negativamente la capacità antiossidante totale dei frutti di kiwi. Shivashankara et al. (2004) determinarono la capacità antiossidante in frutti di mango, prima e dopo il periodo di conservazione e trovarono che essa rimaneva invariata nei 20 giorni del periodo di conservazione, dopodiché diminuiva significativamente. Anche Connor et al. (2002a) osservarono una riduzione della capacità antiossidante in 9 cultivar di mirtillo durante la frigoconservazione (3-5 settimane). Questi autori registrarono, nel caso di tre cultivar, un aumento della capacità antiossidante solo nel primo intervallo di post-raccolta (3 settimane). La capacità antiossidante dei frutti è da attribuire, indubbiamente, al contenuto in fitochimici; in tal senso, Connor et al. (2002c) collegarono l'incremento nei valori della capacità antiossidante al contenuto in fenoli, registrato nella prima fase di conservazione. Anche Shivashankara et al. (2004) relazionarono la riduzione osservata dopo 20 giorni di conservazione principalmente alla forte correlazione con l'acido ascorbico e suggerirono che un incremento nella capacità antiossidante durante la conservazione a basse temperature potrebbe essere possibile solo nei

frutti nei quali il contributo del contenuto in fenoli è maggiore rispetto a quello dell'acido ascorbico.

4.2.3. Acido ascorbico

I frutti, raccolti sia a T1 che a T2, non mostravano differenze significative del contenuto di acido ascorbico, nel primo intervallo di post-raccolta (S1 e S1+7gg), in confronto con i valori presentati al momento della raccolta (**Figura 4.6**). Nei frutti raccolti a T1, l'acido ascorbico diminuiva significativamente alla fine della lunga conservazione a 0°C (S2) e aumentava nuovamente, anche se solo leggermente, dopo una settimana a temperatura ambiente (S2+7gg). Il contenuto in acido ascorbico dei kiwi raccolti a T2 non cambiava alla fine della lunga frigoconservazione (S2) ed aumentava significativamente dopo il mantenimento a temperatura ambiente per una settimana (S2+7gg) (**Figura 4.6**). Generalmente, i frutti freschi contengono maggiore vitamina C rispetto a quelli frigoconservati (Lee e Kader, 2000) e, inoltre, la perdita di vitamina C è estremamente variabile tra i differenti frutti ed ortaggi.

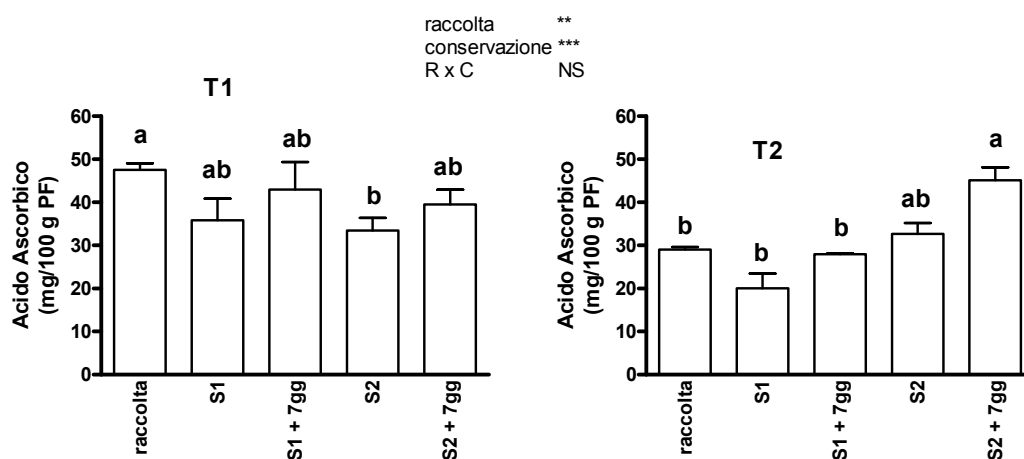


Figura 4.6. Contenuto in acido ascorbico in frutti di kiwi raccolti in 2 differenti epoche (T1: 17-11-2005, e T2: 24-11-2005) e conservati per 2 (S1) e 6 mesi (S2) a 0°C. Al termine dei 2 periodi di frigoconservazione, i frutti erano mantenuti per 7 giorni a 25°C (S1+7gg e S2+7gg, rispettivamente). Le barre rappresentano la media di 3 repliche con la deviazione standard. Per le 2 epoche T1 e T2, medie seguite da lettere uguali non sono significativamente differenti per $P=0,05$. Nel grafico sono riportati anche i risultati ottenuti dall'analisi dell'ANOVA a 2 vie, con l'epoca di raccolta e la conservazione come fattori di variabilità.

L'epoca di raccolta influenzava significativamente la concentrazione di acido ascorbico ($P<0,05$; **Figura 4.6**); infatti, i valori registrati a T1 erano

più elevati di quelli determinati a T2. L'accumulo di acido ascorbico durante la maturazione dipende dal tipo di frutto; Lee e Kader (2000) riportavano che il contenuto in ASA aumentava con la maturazione nelle albicocche, nelle pesche e nella papaia, ma diminuiva nel mango e nelle mele. Generalmente, quando il frutto diventa sovrarmato, il contenuto in vitamina C diminuisce, in concomitanza alla degradazione dei tessuti del frutto (Kalt, 2005).

È noto che il kiwi, così come gli agrumi, rappresenta un'eccellente fonte di vitamina C (Nishiyama et al., 2004). Tuttavia, la capacità antiossidante dei frutti di kiwi non è così alta se comparata con quella di altri frutti. Molti autori riportano, per esempio, che le fragole possiedono una capacità antiossidante più elevata (da 2 a 11 volte) rispetto a quella della mela, della pesca, della pera, dell'uva, del pomodoro, dell'arancia o del kiwi (Halvorsen et al., 2002; Wang et al., 1996). In letteratura c'è un controverso dibattito circa l'influenza della vitamina C alla capacità antiossidante di frutta e verdura (Guo et al., 2003). D'altra parte, è noto anche che frutti caratterizzati da un'elevata capacità antiossidante contengono, generalmente, più antiossidanti e la maggior parte di questi antiossidanti appartengono alla famiglia dei composti fenolici, ed in particolare dei flavonoidi (Connor et al., 2002a; Guo et al., 2003; Wang et al., 1996). Anche Proteggente et al. (2002) riportavano come la più alta capacità antiossidante trovata nelle fragole, nelle susine e nel lampone fosse attribuibile essenzialmente al più elevato contenuto in antocianine.

4.2.4. Fenoli totali

L'interazione tra l'epoca di raccolta e la conservazione non aveva effetti significativi sul contenuto in fenoli totali, mentre era significativa l'influenza dei due fattori considerati separatamente (**Figura 4.7**).

La concentrazione dei fenoli non cambiava nei frutti raccolti a T1 e conservati per due mesi a 0°C (S1) e durante la successiva settimana a 25°C (S1+7gg). Un incremento significativo nella concentrazione di fenoli in questi frutti era osservata al termine della lunga frigoconservazione (S2) e della successiva settimana a temperatura ambiente (S2+7gg). Lo stesso

comportamento era osservato alla fine della conservazione anche per i frutti raccolti a T2 (**Figura 4.7**).

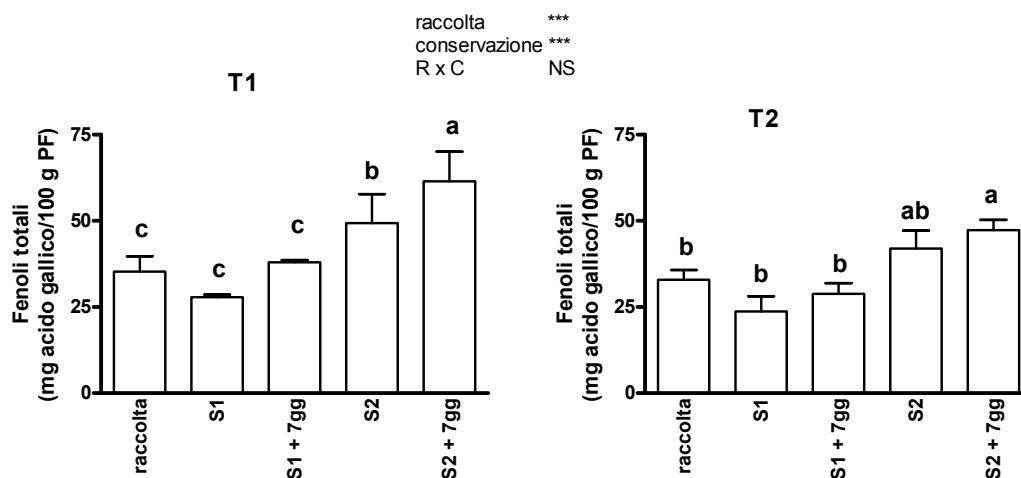


Figura 4.7. Contenuto in fenoli totali in frutti di kiwi raccolti in 2 differenti epoche (T1: 17-11-2005, e T2: 24-11-2005) e conservati per 2 (S1) e 6 mesi (S2) a 0°C. Al termine dei 2 periodi di frigoconservazione, i frutti erano mantenuti per 7 giorni a 25°C (S1+7gg e S2+7gg, rispettivamente). Le barre rappresentano la media di 3 repliche con la deviazione standard. Per le 2 epoche T1 e T2, medie seguite da lettere uguali non sono significativamente differenti per $P=0,05$. Nel grafico sono riportati anche i risultati ottenuti dall'analisi dell'ANOVA a 2 vie, con l'epoca di raccolta e la conservazione come fattori di variabilità.

In uno studio relativo al confronto tra frutti di IV gamma e frutti freschi, Gil et al. (2006) osservarono che durante i 9 giorni di conservazione non si verificava nessun cambiamento significativo nel contenuto in fenoli del kiwi e nessuna differenza era determinata tra il kiwi di IV gamma e quello intero. In generale, il contenuto in fenoli di un frutto aumenta o diminuisce a seconda delle condizioni di conservazione (Kalt, 2005). I risultati ottenuti evidenziavano come la frigoconservazione causasse un incremento significativo nella concentrazione dei fenoli totali e ciò può essere attribuito ai cambiamenti che si verificano nel metabolismo dei fenoli durante la conservazione, come, ad esempio, l'aumento dell'attività della fenilalanina ammonio liasi (PAL). È noto, come la PAL sia associata a molti disordini che si verificano a seguito di una prolungata conservazione a bassa temperatura (Martinez-Tellz e Lafuente, 1997).

4.2.5. Carotenoidi

In **Figura 4.8** è riportato il contenuto in carotenoidi totali dei frutti di actinidia alla raccolta e durante i periodi di conservazione. L'epoca di

raccolta influenzava significativamente la concentrazione dei carotenoidi: i valori più alti erano registrati nei frutti raccolti a T1 (**Figura 4.8**).

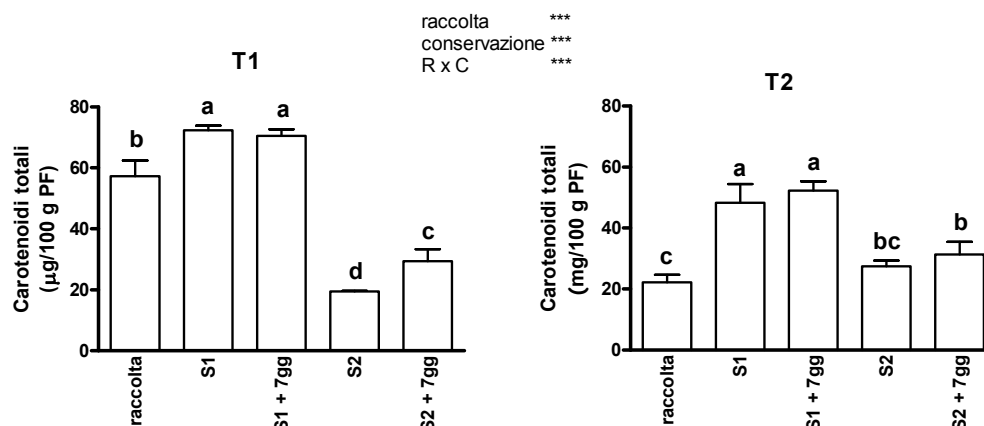


Figura 4.8. Contenuto in carotenoidi totali in frutti di kiwi raccolti in 2 differenti epoche (T1: 17-11-2005, e T2: 24-11-2005) e conservati per 2 (S1) e 6 mesi (S2) a 0°C. Al termine dei 2 periodi di frigoconservazione, i frutti erano mantenuti per 7 giorni a 25°C (S1+7gg e S2+7gg, rispettivamente). Le barre rappresentano la media di 3 repliche con la deviazione standard. Per le 2 epoche T1 e T2, medie seguite da lettere uguali non sono significativamente differenti per $P=0,05$. Nel grafico sono riportati anche i risultati ottenuti dall'analisi dell'ANOVA a 2 vie, con l'epoca di raccolta e la conservazione come fattori di variabilità.

Il contenuto dei pigmenti, sia dei frutti raccolti a T1 che a T2, aumentava significativamente dopo 2 mesi di frigoconservazione (S1) e dopo il mantenimento a 25°C per una settimana (S1+7gg). Al contrario, dopo 6 mesi di conservazione a 0°C si registrava una significativa riduzione (**Figura 4.8**). Un leggero aumento del livello di carotenoidi era osservato nei frutti raccolti a T1 e mantenuti per una settimana a T ambiente, al termine della lunga frigoconservazione (S2+7gg).

I risultati ottenuti mostravano come una lunga conservazione a 0°C determinasse significative perdite di carotenoidi, in frutti raccolti sia a T1 che a T2. Ciò indica che l'epoca di raccolta è un importante fattore in grado di influenzare il mantenimento dei livelli di carotenoidi nel kiwi durante la conservazione. Infatti, frutti raccolti a T2 mostravano valori più bassi alla raccolta rispetto a quelli che esibivano durante la conservazione.

Dai risultati ottenuti nella determinazione delle concentrazioni dei diversi costituenti, appariva interessante l'effetto determinato dal mantenimento dei frutti per una settimana a temperatura ambiente, il quale, a volte, migliorava le caratteristiche nutrizionali dei frutti, come

accadeva per il contenuto in carotenoidi e fenoli in frutti raccolti sia a T1 che a T2 e per il contenuto in acido ascorbico in frutti raccolti a T2.

4.2.6. Correlazione tra i principali fitochimici e la capacità antiossidante

Per evidenziare l'influenza dei costituenti fitochimici sulla capacità antiossidante dei frutti di kiwi, è stata determinata la correlazione tra i valori del FRAP e quelli relativi alle differenti sostanze organiche (vitamina C, carotenoidi e fenoli). Anche per le analisi delle correlazione, le due epoche di raccolta erano considerate separatamente. Dall'analisi statistica, solo la correlazione tra l'acido ascorbico e la capacità antiossidante, nei frutti raccolti a T1, risultava significativa e positivamente correlata (**Figura 4.9**).

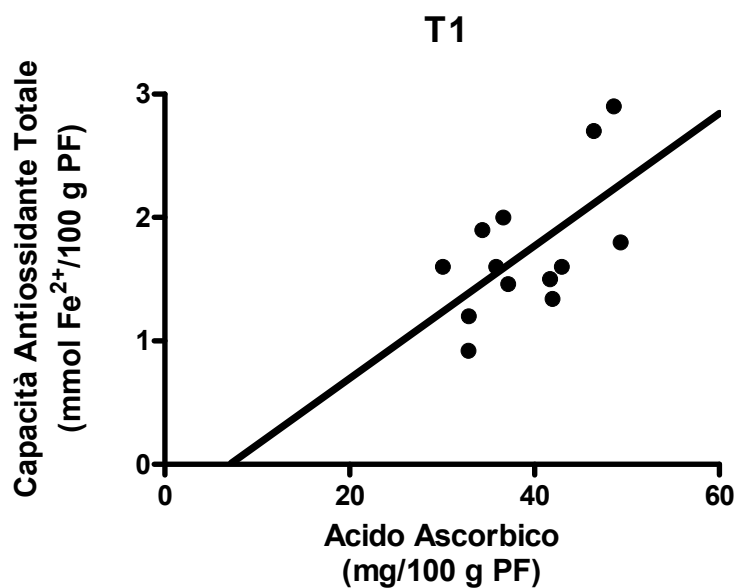


Figura 4.9. Regressione lineare tra i valori della capacità antiossidante totale ed il contenuto in acido ascorbico in kiwi raccolti a T1 e conservati per 2 o 6 mesi a 0°C (S1 e S2) e per una settimana a 25°C (S1+7gg e S2+7gg). ** P<0,01.

Questo risultato era in accordo con il contributo dell'ASA alla capacità antiossidante, determinato per questi frutti e che corrispondeva ad un valore di circa il 40%. I dati ottenuti suggeriscono che, nel kiwi, la vitamina C contribuisca alla capacità antiossidante molto di più degli altri costituenti, quali i fenoli ed i carotenoidi. D'altra parte, il kiwi è

caratterizzato da un alto contenuto in vitamina C e da piccole quantità di composti fenolici (Gil et al., 2006).

4.3 Risultati terzo anno

Dai risultati dell'anno precedente, si era osservato come il mantenimento per una settimana a temperatura ambiente, dopo frigoconservazione, determinasse un miglioramento delle caratteristiche nutrizionali del kiwi. Tuttavia, nonostante questi positivi risultati, i frutti mostravano riduzioni significative in alcune caratteristiche, come la consistenza della polpa. Per tale motivo, la prova del terzo anno si proponeva lo scopo di valutare alcune caratteristiche organolettiche nei kiwi conservati a 0°C per 2 mesi e a temperatura ambiente per una settimana ed il ruolo di alcuni enzimi coinvolti nel processo di *softening* dei frutti, come le β -Galattosidasi e le poligalatturonasi. Negli stessi frutti era determinata anche la capacità antiossidante totale. Un altro obiettivo era quello di valutare l'effetto della radiazione solare sulle caratteristiche organolettiche e nutrizionali dei frutti.

4.3.1. Caratteristiche organolettiche

Nei frutti di kiwi raccolti il 10 Ottobre 2007 (H1), il contenuto in solidi solubili aumentava significativamente da un valore di 6° Brix, registrato al momento della raccolta, a 12° Brix, al termine del periodo di frigoconservazione (S1), senza che si determinassero differenze significative tra frutti esposti alla luce e frutti all'ombra (**Figura 4.10**). I kiwi provenienti dalla seconda epoca di raccolta (H2) mostravano i valori più elevati di contenuto in solidi solubili, anche se alla fine della conservazione, non si osservano differenze tra frutti raccolti nelle due epoche ($P < 0.01$) (**Figure 4.10**). Il mantenimento di questi frutti per una settimana a temperatura ambiente (S2) non determinava nessun ulteriore incremento nei valori di SSC, sia nei frutti alla luce che in quelli all'ombra. Una simile risposta era osservata nei frutti all'ombra raccolti ad epoca precoce.

La consistenza della polpa dei frutti alla luce raccolti ad H1 e mantenuti per 2 mesi a 0°C diminuiva significativamente da 71 a 41 N;

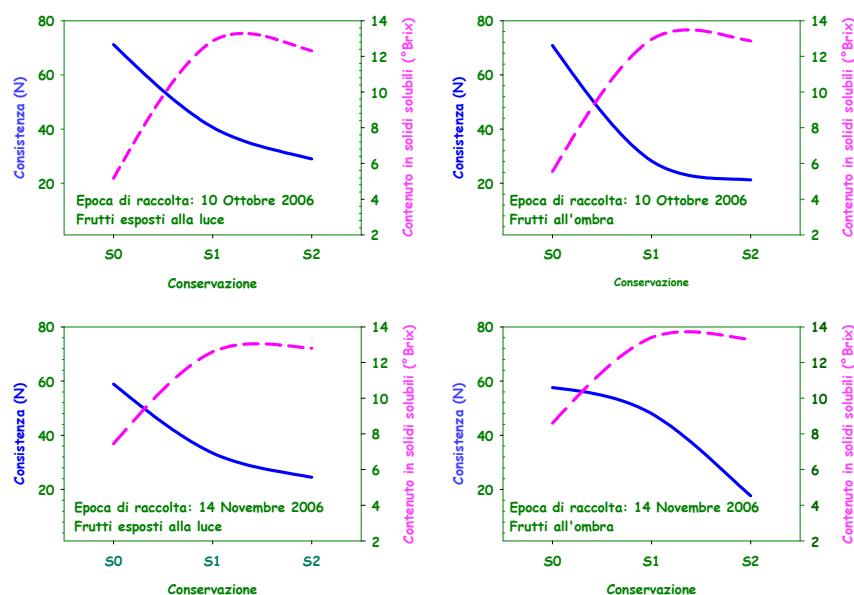


Figura 4.10. Consistenza della polpa (linea blu) e contenuto in solidi solubili (linea rosa) in frutti di kiwi raccolti in due differenti epoche e conservati per 2 mesi a 0°C (S1). Alla fine della frigoconservazione, i frutti erano maltenuti per 7 giorni a temperatura ambiente (S2). S0 rappresenta il momento della raccolta.

questa riduzione era ancor più pronunciata nei frutti all'ombra (**Figura 4.10**). I frutti raccolti ad H2 mostravano valori nettamente inferiori di FF, e, nei frutti all'ombra (59 N), dopo 2 mesi di frigoconservazione, la consistenza della polpa raggiungeva valori di 47 N (**Figura 4.10**).

4.3.2. Capacità antiossidante

In **Figura 4.11** è riportata la capacità antiossidante totale dei kiwi raccolti nelle due differenti epoche e conservati per 2 mesi a 0°C e, successivamente, per una settimana a temperatura ambiente. Nei frutti raccolti ad H1 e a S0, i valori più alti di capacità antiossidante totale erano registrati nei frutti esposti alla luce. Una riduzione significativa era osservata dopo due mesi di frigoconservazione (S1) ed i valori di capacità antiossidante diminuivano ulteriormente durante la settimana di mantenimento a temperatura ambiente (S2) (**Figura 4.11**). Differentemente, nei frutti all'ombra, si registrava un significativo aumento dei valori del FRAP a seguito del mantenimento dei frutti a temperatura ambiente. La situazione era diversa nei frutti raccolti ad H2 (**Figura 4.11**); nei frutti all'ombra, infatti, la capacità antiossidante diminuiva significativamente, sia dopo la frigoconservazione (S1) che al termine della settimana a temperatura ambiente (S2). Nei frutti esposti alla luce, i

valori registrati al momento della raccolta (S0) erano simili a quelli determinati nei frutti all'ombra, si osservava poi una significativa riduzione dopo la conservazione per 2 mesi a 0°C. Nessun cambiamento era, invece, registrato al termine della conservazione a temperatura ambiente.

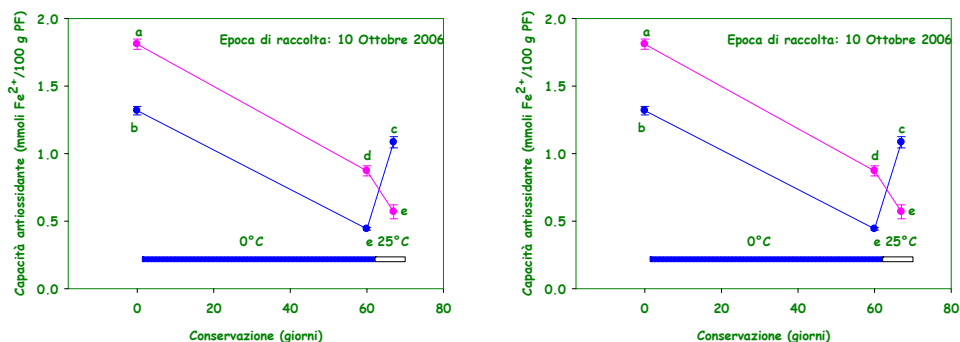


Figura 4.11. Capacità antiossidante dei frutti di kiwi raccolti in due differenti epoche e conservati per 2 mesi a 0°C (S1). Alla fine della frigoconservazione, i frutti erano maltenuti per 7 giorni a temperatura ambiente (S2). S0 rappresenta il momento della raccolta. Ogni valore rappresenta la media di 3 repliche e le barre indicano la deviazione standard. Medie seguite da lettere uguali non sono significativamente diverse per $P=0,05$ a seguito del test dell'ANOVA a due vie con l'esposizione alla luce e la conservazione come fonti di variabilità.

4.3.3. Attività enzimatiche

L'attività della poligalatturonasi aumentava significativamente a seguito della conservazione, raggiungendo il massimo incremento dopo una settimana a temperatura ambiente, sia nei frutti esposti alla luce che in quelli all'ombra (**Figura 4.12**). particolarmente elevato era l'incremento osservato al termine della frigoconservazione in frutti esposti alla luce e raccolti ad H2 (**Figura 4.12**)

Nei frutti esposti alla luce, raccolti ad H1 e conservati per 2 mesi in cella frigorifera si osservava una riduzione significativa dell'attività della β -galattosidasi (**Figura 4.13**). Un'ulteriore riduzione era registrata nell'attività di questo enzima nei frutti conservati per una settimana a temperatura ambiente (**Figura 4.13**). Un comportamento simile era osservato anche nei frutti all'ombra (**Figura 4.13**). Nei kiwi raccolti ad H2, i valori dell'attività della β -Gal era significativamente più alti ($P<0.01$) di quelli determinati nei frutti raccolti ad H1. In questi frutti non erano però registrate differenze significative durante la conservazione, sia in cella frigorifera che a temperatura ambiente (**Figura 4.13**).

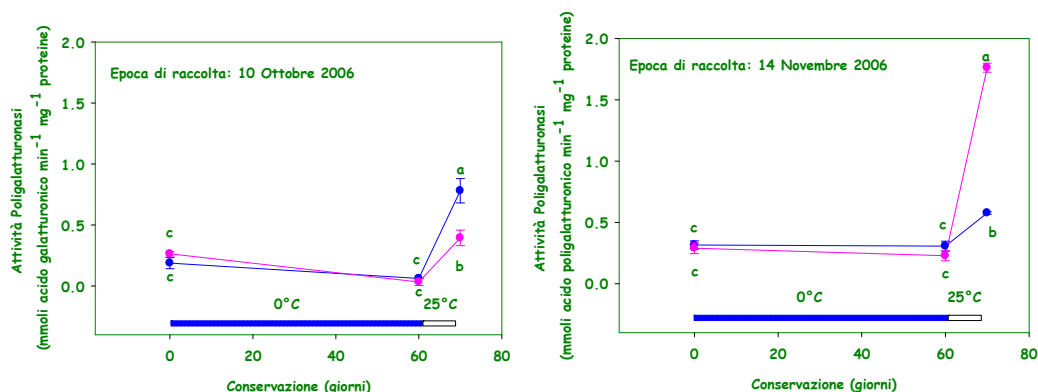


Figura 4.12. Attività della poligalatturonasi in frutti di kiwi raccolti in due differenti epoche e conservati per 2 mesi a 0°C (S1). Alla fine della frigoconservazione, i frutti erano maltenuti per 7 giorni a temperatura ambiente (S2). S0 rappresenta il momento della raccolta. Ogni valore rappresenta la media di 3 repliche e le barre indicano la deviazione standard. Medie seguite da lettere uguali non sono significativamente diverse per $P=0,05$ a seguito del test dell'ANOVA a due vie con l'esposizione alla luce e la conservazione come fonti di variabilità.

I risultati ottenuti evidenziavano come i valori della consistenza della polpa fossero influenzati dall'epoca di raccolta; infatti, ad H1 la FF era solitamente e significativamente più elevata (al di sopra di 60 N) se comparata a quella registrata ad H2. I cambiamenti nella consistenza della polpa coinvolgono numerose alterazioni nella struttura della parete cellulare; Gallego e Zarra (1997) riportarono che, durante i processi di sviluppo, si verifica una grande solubilità dei polisaccaridi pectici della parete cellulare. Tuttavia, non è del tutto chiaro il ruolo degli enzimi associati alla parete delle cellule dei frutti di kiwi durante gli stadi di crescita e maturazione.

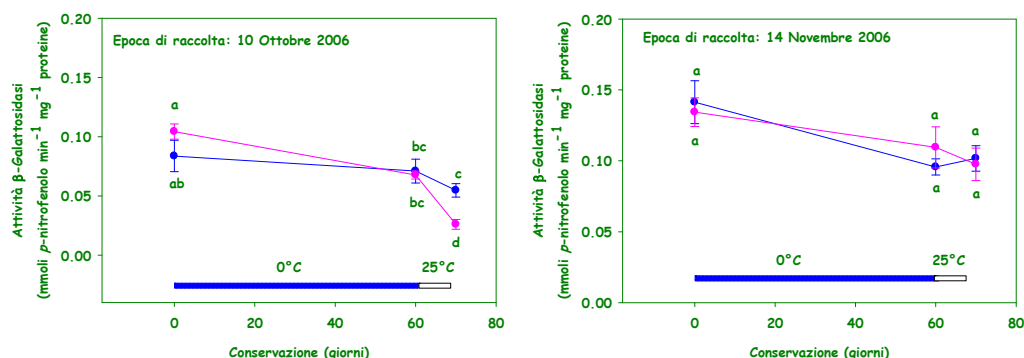


Figura 4.13. Attività della β -galattosidasi in frutti di kiwi raccolti in due differenti epoche e conservati per 2 mesi a 0°C (S1). Alla fine della frigoconservazione, i frutti erano maltenuti per 7 giorni a temperatura ambiente (S2). S0 rappresenta il momento della raccolta. Ogni valore rappresenta la media di 3 repliche e le barre indicano la deviazione standard. Medie seguite da lettere uguali non sono significativamente diverse per $P=0,05$ a seguito del test dell'ANOVA a due vie con l'esposizione alla luce e la conservazione come fonti di variabilità.

I nostri risultati evidenziavano come l'attività della β -galattosidasi aumentasse nei kiwi raccolti a H2, confermando, il suo ruolo nella solubilizzazione delle sostanze pectiche durante la maturazione. È, inoltre, noto come la sola attività delle poligalatturonasi non sia sufficiente a spiegare la solubilizzazione delle pectine (Giovannoni et al., 1989; Smith et al., 1988). La forte riduzione della consistenza della polpa a seguito del mantenimento dei frutti a temperatura ambiente per una settimana era attribuibile al forte incremento registrato nell'attività della PG, soprattutto nei frutti esposti alla luce raccolti ad H2. Sembra che i due enzimi, PG e β -Gal, agiscano sequenzialmente, con un'attività più elevata delle PG nella fase finale della conservazione, come riportato anche da Gallego e Zarra (1998). Le poligalatturonasi sono coinvolte nella depolimerizzazione delle pectine dopo che le pectine sono state solubilizzate a seguito dell'azione della β -galattosidasi.

I nostri risultati mostravano anche che, nei frutti all'ombra raccolti a H2 e conservati per 2 mesi in cella frigorifera, la riduzione dell'intercettazione luminosa induceva una forte diminuzione nella consistenza della polpa, se comparati con frutti esposti alla luce. Come riportato da Antognozzi et al. (1995) una minore radiazione solare intercettata causava una riduzione nella consistenza della polpa.

5. RISULTATI E DISCUSSIONE: *Prunus persica* L. Batsch

5.1 Risultati primo anno

Durante il primo anno sono state effettuate due prove distinte sui frutti di pesco. La prima prova era finalizzata allo studio dell'influenza del portinnesto, della radiazione luminosa e dell'epoca di raccolta su alcune caratteristiche organolettiche e nutrizionali di frutti della cultivar Flavorcrest. L'altra prova aveva come obiettivo l'analisi delle medesime caratteristiche e la stima della concentrazione dei principali fitochimici in frutti provenienti da differenti cultivar di pesco a polpa bianca e a polpa gialla, di percoche e di nettarine, allo scopo di valutare l'influenza del genotipo sulla qualità organolettica e nutrizionale di tali frutti e di identificare le cultivar con la più elevata capacità antiossidante, in relazione al loro contenuto in fenoli, vitamina C e carotenoidi.

5.1.1. Influenza del portinnesto, della radiazione luminosa e dell'epoca di raccolta

5.1.1.1. Caratteristiche organolettiche

Nella **Tabella 5.1** sono riportati i valori relativi all'acidità titolabile, al contenuto in solidi solubili e al rapporto tra quest'ultimi e la TA, in frutti di pesco della cultivar Flavorcrest, in funzione del PI, dell'epoca di raccolta e dell'esposizione dei frutti alla luce.

La TA, che è uno dei principali descrittori di qualità dei frutti, era significativamente influenzata dall'epoca di raccolta. In particolare, alla quarta raccolta si registravano valori di TA generalmente più bassi rispetto a quelli determinati nelle raccolte precedenti. Alla prima raccolta, il PI non influiva sui valori di TA che, dalla seconda raccolta in poi, variavano in modo significativo in funzione del tipo di PI. In particolare, Barrier 1 produceva frutti con i più alti valori di TA nelle 3 epoche di raccolta successive alla prima (**Tabella 5.1**). I frutti prodotti dalle piante innestate su Ishtara e GF 677 mostravano, invece, i contenuti più bassi di TA e perciò, risultavano qualitativamente migliori rispetto ai frutti di Barrier 1 e Mr.S. 2/5.

Tabella 5.1. Acidità titolabile (TA), solidi solubili (SSC) e rapporto SSC/TA in frutti di pesco cv. Flavorcrest, raccolti in 4 differenti epoche (1° raccolta: 5 Luglio 2005; 2° raccolta: 12 Luglio 2005; 3° raccolta: 19 Luglio 2005 e 4° raccolta il 26 Luglio). Ciascun valore rappresenta la media di tre repliche \pm la deviazione standard. Medie seguite da lettere uguali non sono differenti significativamente per $P = 0,05$ a seguito del test dell'ANOVA a due vie, con il portinnesto e l'esposizione alla luce come fonti di variabilità.

| | Epoca di raccolta | Posizione | Barrier 1 | Mr.S. 2/5 | Ishtara | GF677 |
|--------------------|-------------------|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| TA (meq/100 mL) | 1° raccolta | luce | 15.8 \pm 0.73 a | 14.3 \pm 1.79 a | 15.8 \pm 0.73 a | 13.6 \pm 1.35 a |
| | | penombra | 17.5 \pm 2.50 a | 14.8 \pm 0.17 a | 12.1 \pm 0.15 a | 15.8 \pm 2.00 a |
| | | ombra | 19.4 \pm 4.25 a | 16.1 \pm 4.05 a | 15.0 \pm 0.00 a | 14.5 \pm 3.73 a |
| | 2° raccolta | luce | 18.6 \pm 0.56 a | 16.0 \pm 1.32 b | 14.0 \pm 0.12 c | 13.3 \pm 0.36 c |
| | | penombra | 14.7 \pm 0.15 bc | 14.7 \pm 0.21 bc | 13.8 \pm 0.45 c | 15.5 \pm 1.12 bc |
| | | ombra | 14.5 \pm 2.72 bc | 19.2 \pm 0.40 a | 9.4 \pm 0.00 e | 11.2 \pm 0.93 f |
| | 3° raccolta | luce | 13.8 \pm 0.20 de | 16.9 \pm 0.51 b | 12.8 \pm 0.12 e | 11.2 \pm 0.93 f |
| | | penombra | 18.0 \pm 0.76 a | 12.4 \pm 0.00 e | 15.6 \pm 0.20 c | 13.0 \pm 0.36 e |
| | | ombra | 17.9 \pm 0.66 a | 14.1 \pm 0.57 d | 14.3 \pm 0.35 d | 13.8 \pm 0.49 de |
| | 4° raccolta | luce | 11.2 \pm 1.11 bc | 13.4 \pm 0.21 b | 10.4 \pm 0.21 c | 11.0 \pm 0.20 c |
| | | penombra | 12.4 \pm 0.10 bc | 9.5 \pm 0.17 cd | 8.1 \pm 0.03 d | 12.4 \pm 0.45 bc |
| | | ombra | 18.3 \pm 1.26 a | 12.3 \pm 0.15 bc | 7.5 \pm 0.35 d | 10.4 \pm 2.69 c |
| SSC (°Brix) | 1° raccolta | luce | 10.0 \pm 0.25 a | 10.8 \pm 0.25 a | 11.1 \pm 0.42 a | 10.5 \pm 0.76 a |
| | | penombra | 9.1 \pm 0.14 a | 9.7 \pm 0.00 a | 10.6 \pm 0.11 a | 9.4 \pm 0.51 a |
| | | ombra | 8.3 \pm 0.06 a | 8.3 \pm 0.29 a | 9.6 \pm 0.10 a | 8.7 \pm 0.26 a |
| | 2° raccolta | luce | 10.0 \pm 0.45 a | 11.1 \pm 0.50 a | 11.2 \pm 0.20 a | 10.4 \pm 0.29 a |
| | | penombra | 9.9 \pm 0.21 a | 10.9 \pm 0.35 a | 11.7 \pm 0.25 a | 10.5 \pm 0.72 a |
| | | ombra | 8.7 \pm 0.23 a | 9.5 \pm 0.76 a | 9.0 \pm 0.29 a | 8.9 \pm 0.36 a |
| | 3° raccolta | luce | 11.7 \pm 1.00 bc | 13.2 \pm 0.15 a | 12.9 \pm 0.95 ab | 12.1 \pm 0.81 b |

| | | | | | | |
|--------|-------------------|-----------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| SSC/TA | 4° raccolta | penombra | 11.2 ± 0.65 bc | 10.1 ± 0.46 cd | 11.1 ± 0.11 bc | 12.6 ± 0.56 ab |
| | | ombra | 10.7 ± 1.17 c | 9.4 ± 0.10 d | 9.5 ± 0.29 d | 10.2 ± 0.31 cd |
| | | luce | 13.1 ± 0.50 c | 12.3 ± 0.15 cd | 15.3 ± 0.49 a | 14.1 ± 0.42 b |
| | | penombra | 12.3 ± 0.49 cd | 9.9 ± 0.11 ef | 11.4 ± 0.35 d | 12.0 ± 0.55 d |
| | | ombra | 9.5 ± 0.61 f | 8.8 ± 0.31 g | 10.3 ± 0.29 e | 9.7 ± 0.70 ef |
| | Epoca di raccolta | Posizione | Barrier 1 | Mr.S 2/5 | Ishtara | GF677 |
| | 1° raccolta | luce | 0.63 ± 0.045 bc | 0.76 ± 0.051 ab | 0.65 ± 0.062 b | 0.78 ± 0.038 a |
| | | penombra | 0.56 ± 0.057 bc | 0.65 ± 0.006 b | 0.87 ± 0.021 a | 0.60 ± 0.061 bc |
| | | ombra | 0.44 ± 0.096 c | 0.54 ± 0.126 c | 0.64 ± 0.010 bc | 0.55 ± 0.101 bc |
| | 2° raccolta | luce | 0.54 ± 0.021 de | 0.70 ± 0.032 cd | 0.80 ± 0.087 bc | 0.78 ± 0.006 bc |
| | | penombra | 0.67 ± 0.006 cd | 0.75 ± 0.025 c | 0.85 ± 0.045 b | 0.68 ± 0.010 cd |
| | | ombra | 0.62 ± 0.136 d | 0.49 ± 0.029 e | 0.96 ± 0.035 a | 0.79 ± 0.010 bc |
| | 3° raccolta | luce | 0.85 ± 0.083 c | 0.78 ± 0.026 cd | 1.00 ± 0.084 ab | 1.08 ± 0.137 a |
| | | penombra | 0.62 ± 0.015 e | 0.81 ± 0.035 cd | 0.71 ± 0.006 de | 0.97 ± 0.026 b |
| | | ombra | 0.59 ± 0.064 e | 0.67 ± 0.017 de | 0.66 ± 0.036 de | 0.74 ± 0.007d |
| | 4° raccolta | luce | 1.18 ± 0.137 bc | 0.94 ± 0.040 c | 1.47 ± 0.036 a | 1.26 ± 0.021 b |
| | | penombra | 1.00 ± 0.046 c | 1.04 ± 0.029 c | 1.42 ± 0.040 ab | 0.97 ± 0.046 c |
| | | ombra | 0.71 ± 0.225 d | 0.71 ± 0.030 d | 1.38 ± 0.056 ab | 0.93 ± 0.144 c |

Da sottolineare che l'acidità titolabile di pesche e nettarine di qualità organolettica soddisfacente deve essere pari a 50 meq L⁻¹, ma non deve raggiungere valori superiori a 120-150 meq L⁻¹ (CTIFL, 1997).

Il contenuto in solidi solubili (**Tabella 5.1**) non variava significativamente nei frutti provenienti dalle prime due raccolte; differenze significative si registravano in frutti di terza e quarta raccolta, sia in funzione dell'esposizione alla luce che del tipo di PI. I valori più elevati di SSC erano registrati in frutti di quarta raccolta, in particolare in quelli di Ishtara e GF 677; tutti gli altri PI producevano frutti con una percentuale di SSC più bassa.

In **Tabella 5.1** è riportato anche il rapporto tra la dolcezza e l'acidità (SSC/TA), che rappresenta un importante parametro di qualità per pesche e nettarine, in quanto ne definisce il gusto prevalente. I risultati ottenuti mostravano come tale rapporto fosse significativamente influenzato dall'epoca di raccolta, dall'esposizione dei frutti alla luce e dal tipo di PI. I valori più elevati si registravano in frutti provenienti da GF 677 alla prima e quarta raccolta ed in frutti di Ishtara, per tutte e quattro le raccolte. Anche Giorgi et al. (2005) trovarono che, per piante della cultivar Suncrest, innestate su differenti PI, i valori più alti di SSC/TA si registravano per frutti provenienti da GF 677.

5.1.1.2. Capacità antiossidante

La capacità antiossidante dei frutti di prima raccolta era significativamente influenzata dall'esposizione di questi alla luce e dal tipo di portinnesto (**Figura 5.1**). Tuttavia, l'esposizione dei frutti alla luce non aveva un'uguale influenza sulla capacità antiossidante dei frutti provenienti dai differenti PI, per cui non era possibile delineare un comportamento comune. Dalla **Figura 5.1**, infatti, emerge come i frutti esposti alla luce di Mr.S. 2/5 presentavano più elevati livelli di capacità antiossidante, mentre in Barrier 1 ed Ishtara erano i frutti all'ombra quelli caratterizzati da una più elevata capacità antiossidante.

A conferma della variabilità dei valori della capacità antiossidante in funzione dell'esposizione alla luce, addirittura, alla seconda raccolta, i

valori più alti di FRAP si registravano nei frutti esposti alla luce di Barrier 1 e nei frutti in penombra di GF 677 (**Figura 5.2**).

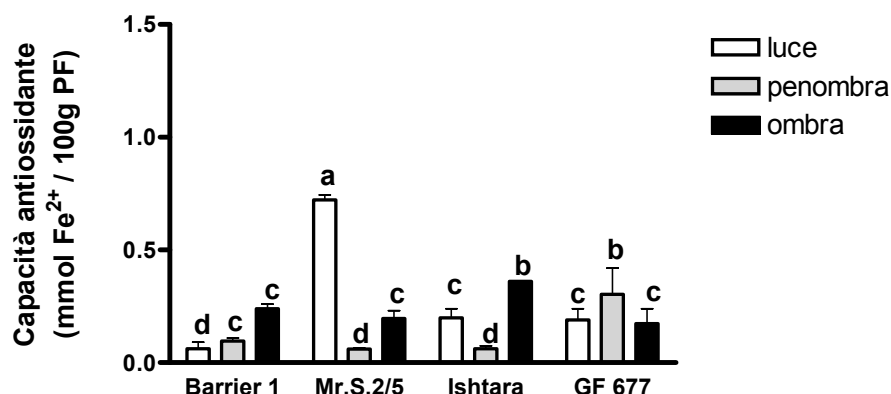


Figura 5.1. Capacità antiossidante totale determinata col metodo FRAP in frutti di pesco cv. Flavorcrest innestata su 4 differenti PI al momento della prima raccolta. Ciascuna barra rappresenta la media di 4 repliche con le rispettive deviazioni standard. Medie con lettere uguali non sono significativamente differenti per $P=0,05$ a seguito del test dell'ANOVA a 2 vie, con il PI e l'esposizione alla luce come fonti di variabilità.

Alla terza raccolta (**Figura 5.3**) si evidenziava un incremento della capacità antiossidante nei frutti di Ishtara, sia alla luce che in penombra, e valori costanti erano invece mantenuti in frutti di GF 677, soprattutto in penombra. Nei frutti della quarta raccolta, si assisteva ad un significativo incremento dei valori del FRAP, circa 3 volte maggiori rispetto a quelli registrati nei frutti raccolti nell'epoche precedenti, per ciascun portinnesto.

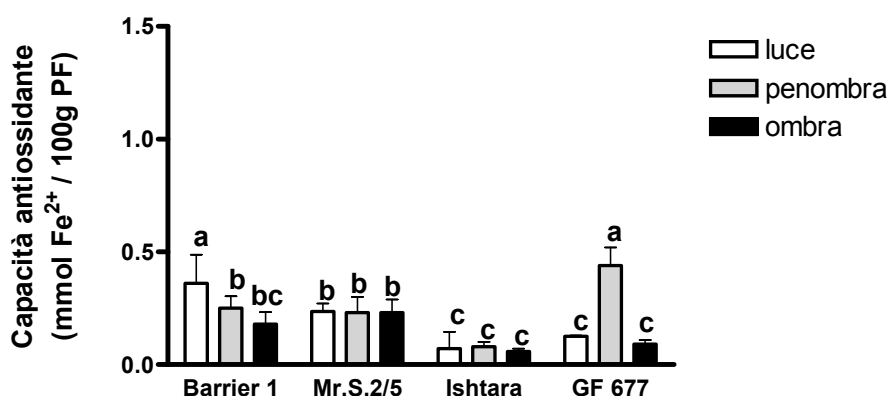


Figura 5.2. Capacità antiossidante totale determinata col metodo FRAP in frutti di pesco cv. Flavorcrest innestata su 4 differenti PI al momento della seconda raccolta. Ciascuna barra rappresenta la media di 4 repliche con le rispettive deviazioni standard. Medie con lettere uguali non sono significativamente differenti per $P=0,05$ a seguito del test dell'ANOVA a 2 vie, con il PI e l'esposizione alla luce come fonti di variabilità.

In particolare, i valori di capacità antiossidante più elevati erano registrati nelle pesche maturate in penombra provenienti dal GF 677 ed in quelle alla luce e in penombra dell'Ishtara (**Figura 5.4**).

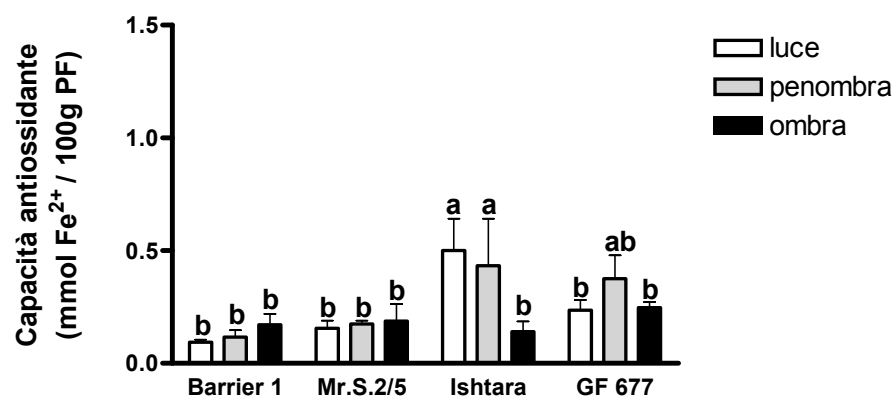


Figura 5.3. Capacità antiossidante totale determinata col metodo FRAP in frutti di pesco cv. Flavorcrest innestata su 4 differenti PI al momento della terza raccolta. Ciascuna barra rappresenta la media di 4 repliche con le rispettive deviazioni standard. Medie con lettere uguali non sono significativamente differenti per $P=0,05$ a seguito del test dell'ANOVA a 2 vie, con il PI e l'esposizione alla luce come fonti di variabilità

I risultati ottenuti mostrano perciò come la capacità antiossidante totale in frutti di pesco, cultivar Flavorcrest, venga positivamente influenzata dall'epoca di raccolta. Infatti, indipendentemente dal tipo di portinnesto e dalla luce, i valori del FRAP aumentavano in modo significativo nei frutti raccolti tardivamente.

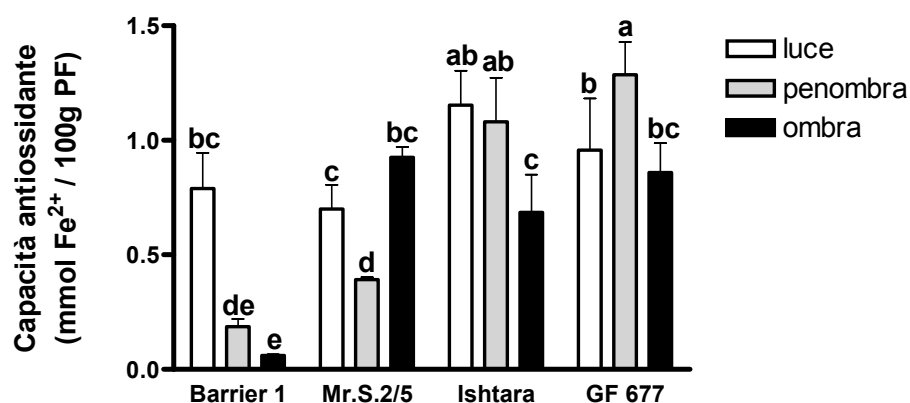


Figura 5.4. Capacità antiossidante totale determinata col metodo FRAP in frutti di pesco cv. Flavorcrest innestata su 4 differenti PI al momento della quarta raccolta. Ciascuna barra rappresenta la media di 4 repliche con le rispettive deviazioni standard. Medie con lettere uguali non sono significativamente differenti per $P=0,05$ a seguito del test dell'ANOVA a 2 vie, con il PI e l'esposizione alla luce come fonti di variabilità.

Questo sottolinea come la qualità del frutto nel pesco dipenda in massima parte dalla scelta dell'epoca di raccolta e quindi da un sufficiente livello di maturazione dei frutti stessi. In realtà, attualmente la scelta dell'epoca ottimale di raccolta viene effettuata valutando i parametri chimico-fisici classici quali la durezza della polpa, il colore di fondo, il sovraccolore, il contenuto in zuccheri e l'acidità titolabile. I risultati ottenuti sembrano indicare, tuttavia, che, al fine di ottenere prodotti con elevate caratteristiche salutistiche, anche la valutazione della capacità antiossidante totale dei frutti rappresenta un importante indicatore.

Dati riportati in letteratura (Di Vaio et al., 2001; Forlani et al., 2003) hanno dimostrato che la capacità antiossidante varia in funzione della cultivar, della frigoconservazione e del portinnesto. Anche i risultati da noi ottenuti hanno dimostrato come la capacità antiossidante totale dei frutti di pesco cv. Flavorcrest fosse influenzata significativamente dal tipo di portinnesto. In particolare, è stato visto come i portainnesti GF 677 e Ishtara, al momento della raccolta in epoca tardiva, producevano frutti con le migliori caratteristiche salutistiche anche in funzione della esposizione alla luce (vedi **Figure 5.3** e **5.4**). Inoltre, i risultati ottenuti in questo studio mostravano come anche la quantità di radiazione solare intercettata fosse un altro fattore colturale incidente sulla qualità dei frutti. Dalle nostre indagini appare evidente come i valori più alti di capacità antiossidante si registravano in frutti esposti alla luce o posizionati in penombra, in ciascuna delle 4 raccolte. La luce, infatti, è il fattore ambientale che maggiormente influenza la qualità e la produzione di molte colture. L'intensità luminosa e la posizione del frutto sulla pianta sono estremamente importanti per la concentrazione dei fitochimici. In presenza di elevati quantitativi di radiazione luminosa, si ha una maggiore produzione di fotosintetati e quindi di scheletri carboniosi importanti per la sintesi delle molecole antiossidanti (Crisosto et al., 1997; Iannini et al., 2002; Luchsinger et al., 2002; Marini et al., 1991).

Dai risultati presentati, emerge come le piante innestate su GF 677 e Ishtara producessero frutti dalle qualità nutrizionali più elevate, dovute alla loro maggiore capacità antiossidante ed ai contenuti più bassi di acidi totali. Una situazione simile per il GF 677 era già stata riportata da Giorgi

et al. (2005) che trovarono come piante della cv. Suncrest innestate su questo portinnesto producevano frutti dalle caratteristiche nutrizionali maggiori (elevata capacità antiossidante ed elevato contenuto in fenoli totali, bassa acidità titolabile ed alto rapporto SSC/TA). Questi autori trovarono anche che l'effetto dell'Ishtara sulla qualità dei frutti di Flavorcrest era positivo in termini di aumento della taglia del frutto, anche se si registrava una lieve riduzione negli zuccheri totali. I frutti prodotti da Ishtara erano caratterizzati da livelli nutrizionali intermedi, mentre quelli di Barrier 1 da una bassa attività antiossidante, da un basso contenuto in fenoli totali e dai più bassi valori del rapporto SSC/TA. Il ruolo del portinnesto è stato ampiamente studiato. Scalzo et al. (2005) determinarono come pesche provenienti dalla cv. Suncrest, innestata su 5 differenti PI (Citation, Junior, Ishtara, Barrier 1 e GF 677), erano caratterizzate da differenti capacità antiossidanti. Junior esibiva i più alti valori, seguito da GF 677, mentre Barrier 1 presentava i valori più bassi. Questi autori osservarono che le pesche provenienti da Junior e GF 677 possedevano anche il più alto contenuto di fenoli che poteva ovviamente influenzare positivamente il potere antiossidante di questi frutti. Ishtara e Barrier 1 presentavano valori più bassi in fenoli e, parallelamente, anche la più bassa capacità antiossidante.

Il portinnesto è perciò un importante fattore agronomico per il controllo della produzione e la qualità dei frutti, in quanto è in grado di modificare le componenti nutrizionali ed organolettiche di questi.

5.1.1.3. Correlazione tra la capacità antiossidante ed il contenuto in carotenoidi

Per valutare il contributo dei carotenoidi, importanti fitochimici presenti nei frutti di pesco, alla capacità antiossidante, è stata determinata la correlazione tra il contenuto in questi pigmenti ed i valori del FRAP. Questa valutazione è stata condotta solo nei frutti raccolti in epoca tardiva (4^a raccolta), quando le caratteristiche organolettiche e salutistiche dei frutti erano ottimali e quando la concentrazione di carotenoidi era più elevata. Nei frutti di Barrier 1, Ishtara e GF 677 è stata trovata una correlazione lineare positiva tra la capacità antiossidante ed il contenuto in

carotenoidi (**Figura 5.5**). In particolare, Barrier 1 mostrava la correlazione più alta tra capacità antiossidante e carotenoidi ($r^2 = 0,9463$) seguito dal GF 677 ($r^2 = 0,6032$) e da Ishtara ($r^2 = 0,5624$). In Mr.S. 2/5, invece, si registrava una correlazione negativa ($r^2 = 0,4820$) per cui all'aumentare del contenuto in carotenoidi diminuiva la capacità antiossidante totale (**Figura 5.5**).

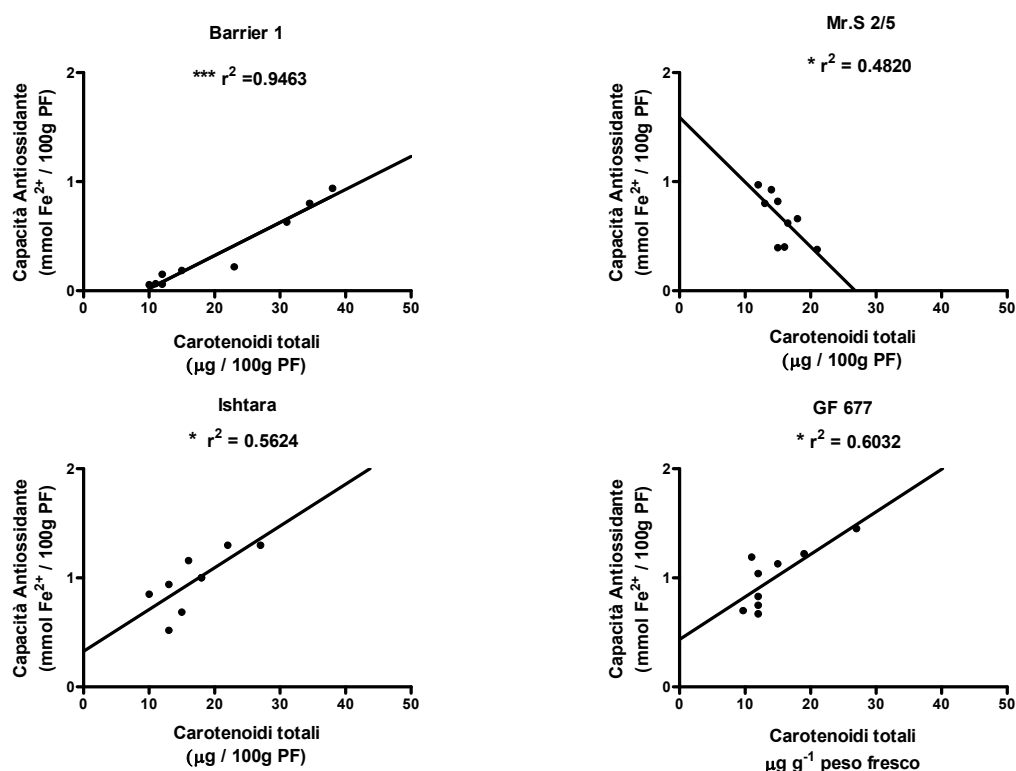


Figura 5.5. Correlazione tra la capacità antiossidante totale ed il contenuto in carotenoidi in frutti di pesco della cultivar Flavorcrest innestata su 4 differenti portinnesti, al momento della quarta raccolta (raccolta tardiva del 26 Luglio 2005). *** $P < 0,001$; * $P < 0.05$.

Questo suggerisce come alla capacità antiossidante dei frutti di Flavorcrest innestata su Mr.S. 2/5 contribuiscano altre importanti sostanze ad azione antiradicalica, come ad esempio i polifenoli. In letteratura è, infatti, riportato come questa vasta classe di composti molto spesso rappresenti la principale responsabile della capacità antiossidante dei frutti (Gil et al., 2002; Protenge et al., 2002; Tomás-Barberán et al., 2001).

Il lavoro rappresentava un primo approccio allo studio dell'influenza di alcuni fattori di pre-raccolta (portinnesto, epoca di raccolta ed esposizione dei frutti alla luce) sulla composizione nutrizionale dei frutti di

Prunus persica; infatti, ad oggi sicuramente la maggiore parte dei lavori ha riguardato l'influenza del portinnesto su caratteristiche come la produttività, la resistenza ai patogeni, gli indici organolettici. Questo lavoro ha permesso la caratterizzazione di 4 importanti portinnesti di pesco in base anche alla loro influenza sulle caratteristiche salutistiche dei frutti della cultivar Flavorcrest. Pochi lavori ad oggi hanno infatti evidenziato l'importanza del portinnesto non solo nei confronti della vigoria della pianta e della capacità di superare avversità abiotiche e biotiche, ma anche nei confronti della qualità della produzione e delle caratteristiche nutraceutiche del frutto (Giorgi et al., 2005; Tsipouridis e Thomidis, 2005).

5.1.2. Effetto del genotipo

5.1.2.1. Caratteristiche organolettiche

I frutti utilizzati in questa prova erano raccolti secondo il proprio calendario varietale, ad uno stadio di maturazione tale da permetterne il consumo fresco immediato (*read-to-eat*), senza la possibilità di conservazione o comunque limitata a pochi giorni. Nella **Tabella 5.2** è riportata la stima soggettiva del sovraccolore.

Tabella 5.2. Stima soggettiva del sovraccolore. Ciascun valore rappresenta la media di 10 repliche \pm la deviazione standard.

| Cultivar | Stima del sovraccolore |
|--------------|------------------------|
| Springcrest | 8,31 \pm 1,022 |
| Redhaven | 7,21 \pm 0,401 |
| Spring Lady | 8,29 \pm 0,761 |
| Royal Glory | 9,67 \pm 0,413 |
| Glohaven | 8,03 \pm 0,917 |
| Armking | 8,32 \pm 1,134 |
| Crimsongold | 9,30 \pm 0,544 |
| Spring Red | 8,31 \pm 0,671 |
| Romea | 1,70 \pm 0,792 |
| Federica | 0,26 \pm 0,465 |
| Maria Bianca | 4,96 \pm 1,345 |

Possiamo osservare come i dati raccolti rispecchiano le caratteristiche intrinseche delle cultivar, ampiamente descritte in

letteratura, con le cv. a polpa gialla più precoci (Redhaven e Spring Lady) che presentano dei valori leggermente inferiori alla media, mentre le tre nettarine (Armking, Crimsongold e Spring Red) presentano i valori più alti di sovraccolore; d'altra parte, la maggior parte delle cultivar di questo gruppo presenta dei caratteri pomologici molto simili, tra cui primeggia l'estesa sovra-colorazione rossa, che spesso ricopre l'intera superficie del frutto (Bellini et al., 2004).

Riguardo alla cultivar a polpa bianca (Maria Bianca) presenta dei valori di colorazione medio-bassi, ma questi rientrano comunque nelle preferenze del mercato di questo tipo di pesche, cioè cultivar caratterizzate da una sovracolorazione parziale.

Le due percoche saggiate (Romea e Federica) non presentavano praticamente sovraccolore, ma il fatto non deve meravigliare in quanto, essendo destinate prevalentemente all'industria, risultano più legate a specifiche esigenze tecnologiche dei mezzi meccanici e chimici utilizzati per la trasformazione dei frutti ed il loro valore merceologico non risulta inficiato dalla presenza del sovraccolore.

Nella **Tabella 5.3** vengono riportati gli indici descrittivi della qualità organolettica (peso, consistenza della polpa, acidità titolabile, contenuto zuccherino) per le 11 cultivar di pesco. Dal confronto tra questi dati possiamo notare come le caratteristiche qualitative variavano significativamente tra le cultivar. I più alti valori di peso fresco sono stati rilevati nelle cultivar Redhaven (pesca a polpa gialla) e Maria Bianca (pesca a polpa bianca) mentre i più bassi nelle cultivar Spring Lady (polpa gialla) ed Armking (nettarina).

Anche riguardo alla consistenza della polpa e al contenuto in solidi solubili si poteva notare un'ampia variazione tra le cultivar in esame. La consistenza della polpa variava da valori di 1.6 Kg (frutti morbidi) a 3.7 Kg (frutti consistenti). Springcrest, tra le cultivar a polpa gialla, e Spring Red per le nettarine, presentavano i valori di FF più elevati, mentre i valori più bassi si registravano nelle cultivar Spring Lady e Glohaven (polpa gialla), Armking (nettarina) e Romea (percoca). I valori presentati da queste

Tabella 5.3. Indici di qualità e parametri di raccolta di differenti cultivar di pesco al momento della raccolta. Ciascun valore rappresenta la media di 10 repliche \pm la deviazione standard. Le medie seguite dalla stessa lettera non sono significativamente diverse per $P = 0.05$ a seguito dell'analisi della varianza ad una via con il genotipo come fonte di variabilità.

| Cultivar | Peso (g) | FF (kg) | SSC (° Brix) | TA (meq NAOH mL⁻¹) | SSC/TA |
|-----------------|----------------------|--------------------|-------------------------|--|--------------------|
| Springcrest | 136.4 \pm 35.42 ef | 3.6 \pm 0.24 a | 10.9 \pm 1.19 ef | nd | nd |
| Spring Lady | 114.8 \pm 12.91 fg | 1.7 \pm 0.42 e | 10.4 \pm 0.99 f | 1.4 \pm 0.50 d | 7.4 \pm 2.02 de |
| Royal Glory | 163.3 \pm 22.13 cd | 3.4 \pm 0.79 ab | 12.1 \pm 2.12 de | 0.6 \pm 0.09 g | 17.3 \pm 2.35 a |
| Redhaven | 235.4 \pm 16.35 a | 2.1 \pm 1.29 de | 11.7 \pm 1.28 def | 1.6 \pm 0.01 c | 7.7 \pm 0.05 cde |
| Glohaven | 190.1 \pm 25.55 b | 1.7 \pm 1.04 e | 12.6 \pm 1.44 cd | 1.1 \pm 0.11 e | 10.2 \pm 0.83 b |
| Maria Bianca | 213.3 \pm 32.92 a | 2.58 \pm 1.07 cd | 12.9 \pm 0.83 bcd | 1.6 \pm 0.18 c | 8.3 \pm 0.90 cd |
| Armking | 111.3 \pm 20.00 g | 1.6 \pm 0.86 e | 10.4 \pm 2.00 f | 2.0 \pm 0.25 b | 4.5 \pm 0.78 f |
| Spring Red | 148.3 \pm 18.61 ef | 3.7 \pm 0.77 a | 13.8 \pm 1.76 bc | 2.6 \pm 0.22 a | 6.1 \pm 0.94 ef |
| Crimsongold | 142.4 \pm 12.50 ef | 2.6 \pm 1.00 bcd | 14.2 \pm 1.33 ab | 2.1 \pm 0.26 b | 6.7 \pm 0.78 de |
| Federica | 161.3 \pm 29.52 cd | 2.3 \pm 0.35 cde | 15.4 \pm 2.99 a | 0.9 \pm 0.01 f | 18.8 \pm 0.17 a |
| Romea | 183.3 \pm 35.16 bc | 1.6 \pm 0.63 e | 12.2 \pm 1.12 de | 1.4 \pm 0.06 d | 9.4 \pm 0.54 bc |

nd = campione non disponibile

cultivar erano decisamente troppo bassi ai fini delle manipolazioni che devono subire, sia per il consumo fresco che per l'industria (Romea).

Anche il contenuto in solidi solubili variava significativamente tra le cultivar studiate: Spring Lady (polpa gialla) ed Armking (nettarina) erano caratterizzate dai più bassi valori (10,4 °Brix), come del resto prevedibile, dal momento che, essendo cultivar precoci, molto spesso, soprattutto negli areali peschicoli situati più a nord, non raggiungono gli standard organolettici richiesti dal mercato. Il valore più elevato (15,4°Brix) si è registrato, invece, nella percoca Federica che, allo stesso tempo, riportava anche valori più elevati, insieme alla pesca a polpa gialla Royal Glory, del rapporto SSC/TA, data la sua bassa acidità. La più alta acidità veniva riportata nella Spring Red, mentre la Spring Lady era caratterizzata dal valore più basso. Questa ampia variabilità negli indici di qualità delle differenti cultivar dimostra come il genotipo, e quindi la diversa origine genetica, sia un importante fattore di pre-raccolta, rilevante nella determinazione delle caratteristiche organolettiche, e non solo, di un frutto.

5.1.2.2. Capacità antiossidante

La diversità genetica osservata per le caratteristiche organolettiche era evidente anche nella capacità antiossidante. Infatti, i valori relativi alla stima del FRAP evidenziavano chiaramente come il genotipo giocasse un ruolo prioritario nel determinare la capacità antiossidante dei frutti di pesco (**Figura 5.6**)

I più alti valori di FRAP erano determinati nei frutti della percoca Federica e nella pesca a polpa gialla Springcrest, mentre valori intermedi si registravano nelle nettarine Crimsongold e Spring Red. La più bassa capacità antiossidante caratterizzava i frutti della percoca Romea e della pesca a polpa gialla Royal Glory. Dai risultati ottenuti, non è possibile definire un chiaro trend in termini di capacità antiossidante tra i diversi gruppi di cultivar (pesche a polpa gialla, a polpa bianca, nettarine e percoche). Gil et al. (2002) notarono come le cultivar di pesche a polpa gialla in generale presentassero una capacità antiossidante più elevata rispetto a quelle a polpa bianca. In particolare, questi autori trovarono

come la cultivar Spring Lady possedesse i più alti valori di FRAP tra le pesche del gruppo a polpa gialla.

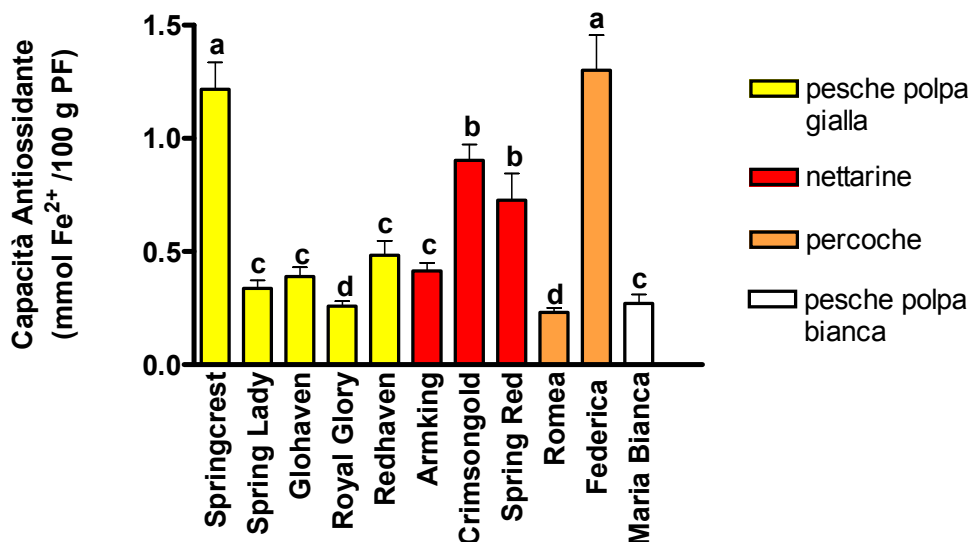


Figura 5.6. Capacità antiossidante totale determinata con il metodo del FRAP in frutti di 11 differenti cultivar di pesco innestata su SIRIO. Ciascuna barra rappresenta la media di tre repliche con le rispettive deviazioni standard. Medie con lettere uguali non sono significativamente differenti per $P=0,05$ a seguito del test dell'ANOVA ad una via, con il genotipo come fattore di variabilità.

Nel nostro caso, invece, la Spring Lady era caratterizzata da una capacità antiossidante intermedia rispetto alle altre cultivar del gruppo, nel quale primeggiava la Springcrest. Nello stesso lavoro, Gil et al. (2002) osservarono anche come, nel caso delle nettarine, non fosse possibile stabilire una chiara divisione in gruppi (nettarine a polpa gialla e a polpa bianca) in termini di capacità antiossidante e conclusero così che la capacità antiossidante era maggiormente correlata alla singola cultivar, piuttosto che al gruppo di cultivar di appartenenza. Anche Dalla Valle et al. (2007) hanno sottolineato come la capacità antiossidante possa variare fortemente a seconda della cultivar e dei fattori ambientali e genetici.

Scalzo et al. (2005) mostrarono come il background genetico (specie e cultivar) giocasse un ruolo chiave nel determinare il potenziale antiossidante dei frutti. Il confronto tra frutti delle cultivar più comunemente coltivate di 5 differenti specie (fragola, kiwi, mela, albicocca e pesca) mostravano la seguente gerarchia di capacità antiossidante: fragola selvatica >> fragola coltivata >> kiwi = mela = albicocca = pesca. Anche

Halvorsen et al. (2002) e Wang et al. (1996) determinarono come le fragole fossero caratterizzate da una capacità antiossidante più elevata (da 2 a 11 volte) rispetto quella posseduta da altri frutti come pesche, pere, uva, pomodoro, arance o kiwi.

Quindi certamente il genotipo influenza la composizione fitochimica dei frutti di pesco, come peraltro già osservato nel paragrafo precedente relativo alla scelta del PI; certamente le condizioni ambientali influenzano la risposta stessa del genotipo ed in questo modo determinano ulteriori variazioni a sottolineare come i fattori di pre-raccolta interagiscano tra loro e per questo motivo debbono essere considerati nel loro insieme.

5.1.2.3. Fenoli totali

La quantità di fenoli determinata in questo lavoro si collocava perfettamente nel range di valori riportato in letteratura per le pesche (42-77 mg di acido gallico/100g PF) (Chang et al., 2000; Proteggente et al., 2002). Il contenuto in fenoli (**Figura 5.7**) variava tra le diverse cultivar, in un range compreso tra 14 e 50 mg di acido gallico/100g PF, con valori significativamente più elevati nelle cultivar Royal Glory e Federica.

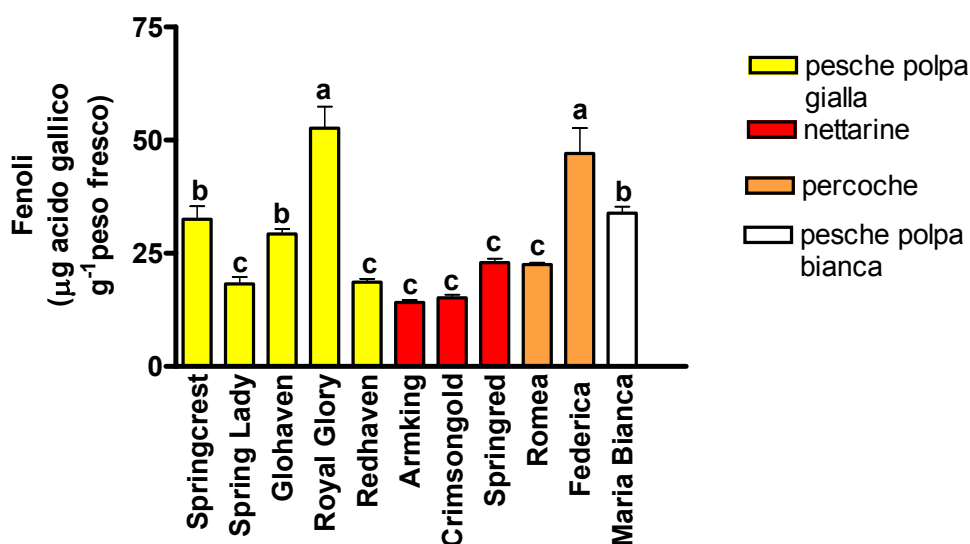


Figura 5.7. Contenuto in fenoli totali determinato con il metodo Folin-Ciocalteu in frutti di 11 differenti cultivar di pesco innestate su SIRIO. Ciascuna barra rappresenta la media di 3 repliche con le rispettive deviazioni standard. Medie con lettere uguali non sono significativamente differenti per $P=0,05$ a seguito del test dell'ANOVA ad una via, con il genotipo come fattore di variabilità.

Le tre nettarine, la pesca a polpa gialla Spring Lady e la percoca Romea presentavano invece il più basso contenuto in fenoli. Anche Gil et al. (2002) osservarono un'ampia variabilità nei livelli di fenoli nelle differenti cultivar di pesche e nettarine (da 21 a 111 mg/100g PF per le pesche a polpa gialla e a polpa bianca; da 14 a 102 mg/100g PF nel caso delle nettarine a polpa gialla e a polpa bianca).

Anche Scalzo et al. (2005) notarono come il contenuto in fenoli variasse notevolmente tra diverse cultivar di fragola e di pesche ed albicocche innestate su diversi PI. Questi dati confermano ancora una volta l'importante ruolo del genotipo nel determinare la quantità totale degli specifici componenti nutrizionali.

In letteratura è riportato come la vitamina C ed i composti fenolici giochino un ruolo protettivo nei confronti della salute umana, a causa della loro elevata capacità antiossidante (Gandini et al., 2000; Ziegler, 1991). In particolare, i polifenoli sono composti ampiamente rappresentati nel mondo vegetale ed agiscono come i principali agenti di difesa durante lo sviluppo del frutto, in quanto gli conferiscono il tipico sapore astringente, rendendo quindi il frutto poco appetibile per i predatori. Comunque, le piante hanno bisogno di diffondere il seme per la perpetuazione della specie, e a questo proposito diminuisce il contenuto in fenoli con la maturazione dei frutti così da renderli maggiormente appetibili. A questo punto della maturazione, aumenta anche il contenuto in vitamina C, per bilanciare la diminuzione dei polifenoli, allo scopo di difendere i frutti da possibili danneggiamenti ed ossidazioni (Dalla Valle et al., 2007).

Tuttavia, non è solo il contenuto totale in fenoli a determinare la capacità antiossidante totale di un frutto, ma soprattutto la loro struttura molecolare. È, infatti, ampiamente riportato in letteratura come il potere antiossidante dei composti fenolici sia governato proprio dalla struttura chimica e non dalla loro quantità. In particolare, è stato osservato come la capacità antiossidante aumenti in maniera proporzionale al numero dei loro gruppi carbossilici (Leontowicz et al., 2003). Anche il grado di coniugazione e di glicosilazione influenza significativamente le proprietà antiossidanti dei composti fenolici (Imeh e Khokhar, 2002). Proteggente et al. (2002) riportavano come la più alta capacità antiossidante

caratterizzasse frutti ricchi di antocianine (fragole, lamponi e susine rosse), seguiti dai frutti ricchi di flavanoni (arance e pompelmi) o flavonoli. Al contrario, gli estratti di frutti ricchi in idrossicinnamati (mele, pere e pesche) mostravano il più basso contenuto in fenoli e vitamina C, che si rifletteva nella loro più bassa capacità antiossidante totale. Questo è dovuto al basso potenziale antiossidante che caratterizza gli acidi idrossicinnamici (Jovanovic et al., 1998) relativamente agli altri polifenoli. Tuttavia, Sanoner et al. (1999) riportarono un contenuto in fenoli in cultivar francesi di mele molto più alto rispetto a quello trovato da Proteggente et al. (2002). Questa divergenza potrebbe essere dovuta sia a differenze varietali, sia all'uso di differenti standard per la determinazione dei fenoli totali, ma anche alle diverse condizioni pedoclimatiche di coltivazione.

I programmi di miglioramento genetico tendono a selezionare cultivar caratterizzate da un elevato contenuto in fenoli e, conseguentemente, da una più elevata capacità antiossidante e da maggiori proprietà salutistiche. Perciò, le caratteristiche qualitative delle diverse cultivar dovrebbero essere sempre più conosciute e prese in considerazione. A tale proposito, Cevalos-Casals et al. (2006) hanno selezionato nuove cultivar di susino e di pesco in base al loro elevato contenuto in fenoli, che si traduceva in una più elevata capacità antiossidante.

5.1.2.4. Carotenoidi

Come era prevedibile, il più basso contenuto in carotenoidi (<25 µg/100 g PF) era registrato nella cultivar di pesco a polpa bianca Maria Bianca (**Figura 5.8**).

Tra le pesche a polpa gialla, Glohaven possedeva il maggior contenuto di carotenoidi (circa 100 µg/100 g PF), seguita dalla percoca Federica. I valori ottenuti erano simili a quelli riportati in letteratura; ad esempio Gil et al. (2002) trovarono una concentrazione di carotenoidi dell'ordine di 71-210 µg/100 g PF per le pesche a polpa gialla, di 7-20 µg/100 g PF per quelle a polpa bianca, di 80-186 µg/100 g PF per le nettarine a polpa gialla ed infine, di 7-14 µg/100 g PF per le nettarine a polpa bianca. L'USDA Food Composition Database riporta una

concentrazione media di carotenoidi per le nettarine a polpa gialla, per le pesche a polpa gialla e per le susine pari rispettivamente a 160, 179 e 114 $\mu\text{g}/100\text{ g PF}$. I valori da noi determinati erano leggermente inferiori a quelli dell'USDA.

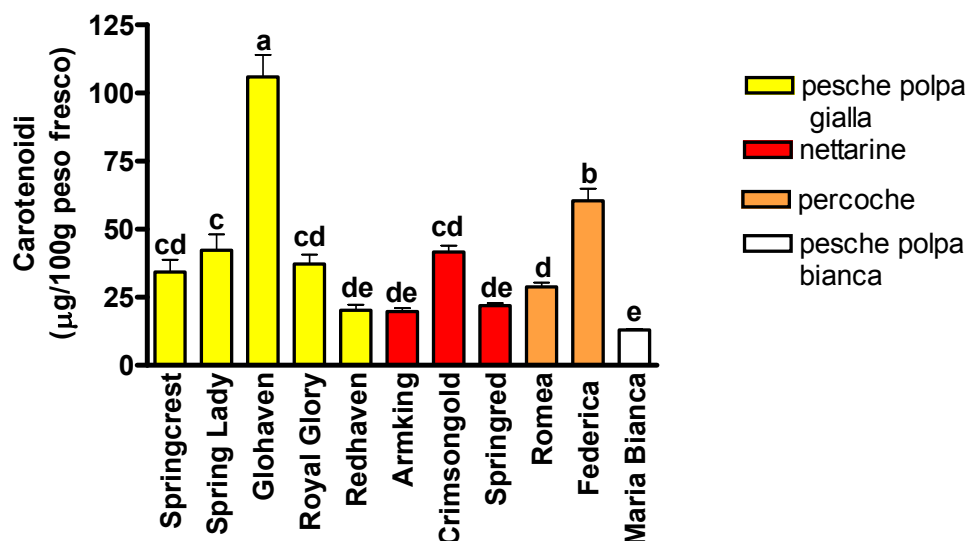


Figura 5.8. Contenuto in carotenoidi in frutti di 11 differenti cultivar di pesco innestate su SIRIO. Ciascuna barra rappresenta la media di 3 repliche con le rispettive deviazioni standard. Medie con lettere uguali non sono significativamente differenti per $P=0,05$ a seguito del test dell'ANOVA ad una via, con il genotipo come fattore di variabilità.

Da notare, come anche in questo caso, il genotipo sia un fattore estremamente importante nel determinare la concentrazione di carotenoidi, come emerge dall'elevata variabilità tra le cultivar. Una simile situazione era trovata anche da Ruiz et al. (2005) nella concentrazione di carotenoidi totali in nuove cultivar di albicocco.

Molti studi hanno correlato il colore con il contenuto in pigmenti in differenti tipi di frutti (Arias et al., 2000). Questi autori ritengono che, nelle albicocche, l'intensità del colore del β -carotene sia un realistico indicatore del contenuto in vitamina A; pertanto, la misurazione non distruttiva del colore attraverso un colorimetro portatile, può fornire una buona stima del contenuto in carotenoidi. In base a ciò, i programmi di miglioramento genetico dell'albicocco potrebbero utilizzare l'analisi del colore (CE Lab) come criterio di qualità per la selezione di nuove cultivar con un più alto contenuto di carotenoidi.

5.1.2.5. Acido ascorbico

Il contenuto di vitamina C mostrava valori compresi tra 1 e 5 mg ASA_{TOT}/100 g PF per la maggior parte delle cultivar analizzate, mentre i valori più elevati (tra 9 e 14 mg ASA_{TOT}/100 g PF) erano registrati nelle cultivar Glohaven, Redhaven, Federica e Maria Bianca (**Figura 5.9**).

I dati ottenuti erano simili a quelli registrati da Gil et al. (2002), i quali trovarono un contenuto in vitamina C compreso tra 4 e 13 mg ASA_{TOT}/100 g PF per le nettarine, tra 6 e 9 mg ASA_{TOT}/100 g PF per le pesche a polpa bianca e tra 4 e 13 mg ASA_{TOT}/100 g PF per le pesche a polpa gialla. L'USDA Food Composition Database riporta contenuti medi di acido ascorbico per nettarine a polpa gialla, per pesche a polpa gialla e per susine rispettivamente pari a 5,4; 6,6 e 9,5 mg/100 g PF. Da ricordare, però, come la vitamina C non sia tipicamente il principale composto ad azione antiossidante della pesca, mentre lo è per altri frutti come gli agrumi, il kiwi, i frutti di bosco e l'ananas.

Anche il contenuto in vitamina C, come quello in fenoli e carotenoidi, variava ampiamente tra le diverse cultivar.

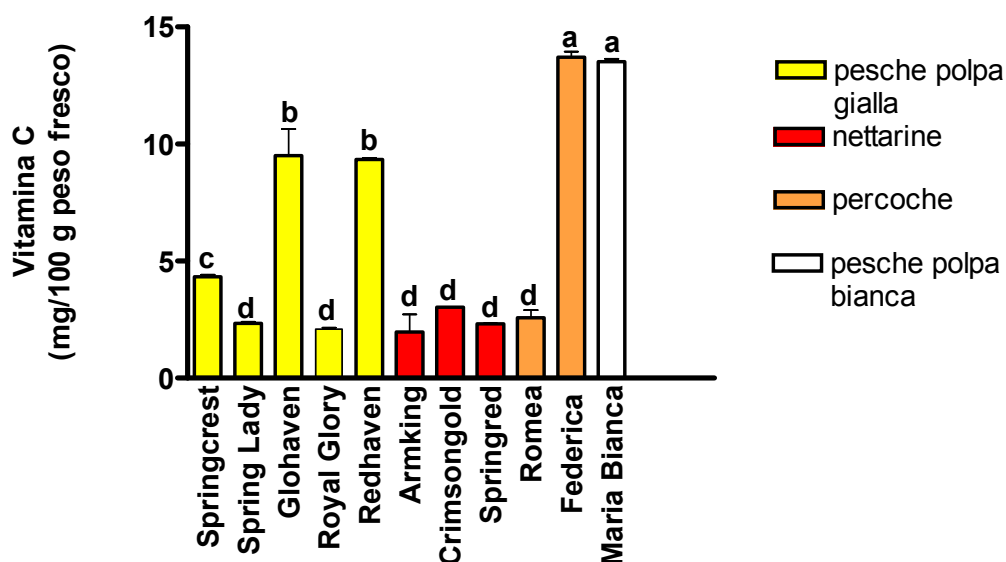


Figura 5.9. Contenuto i vitamina C in frutti di 11 differenti cultivar di pesco innestate su SIRIO. Ciascuna barra rappresenta la media di 3 repliche con le rispettive deviazioni standard. Medie con lettere uguali non sono significativamente differenti per $P=0,05$ a seguito del test dell'ANOVA ad una via, con il genotipo come fattore di variabilità.

Ancora una volta, la percoca Federica, insieme alla pesca a polpa bianca Maria Bianca, presentava il livello più alto di vitamina C, proprio

come accadeva per il contenuto in fenoli totali. Parallelamente a ciò, Federica mostrava un'alta concentrazione di carotenoidi e la maggiore capacità antiossidante (insieme alla pesca a polpa gialla Springcrest). In maniera diversa, Maria Bianca, anche se possedeva alti valori di vitamina C e fenoli, era tra le cultivar con la più bassa capacità antiossidante.

5.1.2.6. Correlazione tra la capacità antiossidante ed i principali fitochimici

La valutazione del contributo dei fenoli totali, della vitamina C e dei carotenoidi alla capacità antiossidante era valutata solo nelle cultivar di pesche a polpa gialla; infatti, solo per questo gruppo avevamo a disposizione un numero statisticamente rappresentativo di cultivar.

I fenoli erano gli unici composti organici ad essere correlati significativamente con la capacità antiossidante delle pesche a polpa gialla ($r^2 = 0,5184$; $P < 0,01$) (**Figura 5.10**).

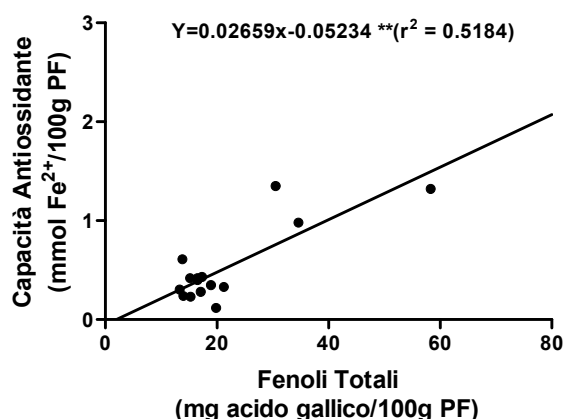


Figura 5.10. Regressione lineare tra la capacità antiossidante totale valutata con il metodo FRAP ed il contenuto in fenoli totali in cultivar di pesche a polpa gialla. **: $P < 0,01$.

In letteratura, è ampiamente riportato come la capacità antiossidante sia linearmente correlata con il contenuto in fenoli (Holasova et al., 2002; Velioglu et al., 1998). Anche Gil et al. (2002) trovarono che i composti fenolici erano gli unici costituenti ad essere correlati significativamente alla capacità antiossidante totale in cultivar di pesche e nettarine. Nessuna correlazione significativa era, invece, ottenuta tra la capacità antiossidante e la vitamina C ed i carotenoidi. La mancanza di correlazione diretta tra FRAP e vitamina C non deve sorprendere, dal momento che la vitamina C non rappresenta il principale fitochimico dei

frutti di pesco. Al contrario, in uno studio sul pesco, Dalla Valle et al. (2007) trovarono come la vitamina C potesse essere la principale responsabile della capacità antiossidante, misurata con il metodo TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), in pesche conservate a 4°C. Cho et al. (2006), in uno studio relativo alla capacità antiossidante di 21 frutti, 67 ortaggi e 7 legumi, misurata con il metodo ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) ed il metodo LAP (Lipophilic Antioxidant Performance), trovarono come questa fosse correlata significativamente con i tocoferoli, i carotenoidi ed i fenoli total, ma non con la vitamina C. Questi dati indicavano che tocoferoli, carotenoidi e fenoli erano i maggiori responsabili della capacità antiossidante, sia della porzione lipofila che idrofila, di molte specie vegetali. È da notare, però, come la correlazione tra la capacità antiossidante ed i fenoli sia in relazione al tipo di frutto. Scalzo et al. (2005) trovarono una correlazione negativa tra i valori del TEAC e quelli del contenuto totale di fenoli in diversi genotipi di fragola ($r = -0,56$), una correlazione non significativa in albicocca ($r = 0,08$) ed una correlazione positiva in pesche ($r = 0,42$). Quindi, la capacità antiossidante potrebbe non essere sempre correlata al contenuto in fenoli (Kahkonen et al., 1999). La correlazione negativa trovata per le fragole potrebbe essere dovuta all'alto contenuto in acido ascorbico, che caratterizza tale specie e che il 20% più alto di quello registrato nelle arance (Proteggente et al., 2002).

In conclusione, i risultati ottenuti in questa ricerca e quelli già presenti in letteratura dimostrano come la capacità antiossidante dei frutti non sia necessariamente correlata alla concentrazione di uno o più fitochimici presenti. Di estrema importanza sono ovviamente le caratteristiche molecolari del fitochimico che determinano la sua "potenza" come antiossidante.

5.2 Risultati secondo anno

La prova del secondo anno era finalizzata alla valutazione dell'influenza di diversi portinnesti e di differenti epoche di raccolta sulle caratteristiche organolettiche e nutrizionali dei frutti di pesco della cultivar Flavorcrest. Inoltre, era valutata anche la differenza del contenuto in composti

fitochimici e della capacità antiossidante totale nelle due frazioni del frutto: polpa e buccia, al fine di sottolineare l'importanza di consumare i frutti nella loro interezza. Infatti, è uso comune, per la maggior parte dei frutti, eliminare la buccia al momento del consumo perché risulta indigesta o perché è possibile che sia contaminata da fitofarmaci o quant'altro. È noto però, che la buccia contiene elevate quantità di fitochimici, addirittura in misura maggiore rispetto a quelle riscontrabili nella polpa.

5.2.1. Caratteristiche organolettiche

Nella **Tabella 5.4.** sono riportati i valori dei principali indici organolettici: peso fresco, consistenza della polpa, contenuto in solidi solubili, acidità titolabile e stima del sovraccolore della buccia dei frutti di pesco, cultivar Flavorcrest, innestata su Ishtara, Mr.S 2/5, GF 677 e Barrier 1.

Il peso fresco aumentava significativamente durante la maturazione dei frutti sulla pianta (**Tabella 5.4.**), Ishtara produceva frutti dalla pezzatura maggiore in terza raccolta. Al contrario, la consistenza della polpa diminuiva significativamente con l'epoca di raccolta, raggiungendo valori ottimali in un range compreso tra 5 e 6 kg alla seconda raccolta (H2) (**Tabella 5.4.**). Questi valori rappresentano l'ottimo anche in previsione di un periodo di lunga conservazione delle pesche. Alla prima raccolta, le differenze tra i valori della consistenza della polpa dipendevano dal tipo di portinnesto usato, mentre alla seconda ed alla terza raccolta l'influenza del portinnesto non era significativa.

Il contenuto in solidi solubili raggiungeva i valori più elevati nei frutti raccolti ad H3 e provenienti dai portinnesti Ishtara, Mr.S 2/5 e Barrier 1, mentre per le pesche del GF 677 non si registrava nessun cambiamento significativo per le tre epoche di raccolta (**Tabella 5.4.**). Barrier 1 era il portinnesto che produceva frutti con il più alto contenuto zuccherino (12°Brix) alla terza raccolta.

L'acidità titolabile diminuiva significativamente per tutti i portinnesti, in funzione dell'epoca di raccolta (**Tabella 5.4.**); tale riduzione era particolarmente evidente nei frutti di Ishtara e Mr.S 2/5, per i quali si registrava anche il più alto valore del rapporto SSC/TA.

Tabella 5.4. Peso fresco (PF), consistenza della polpa (FF), contenuto in solidi solubili (SSC), acidità titolabile (TA) e sovraccolore in pesche della cultivar Flavorcrest raccolte in 3 differenti epoche [30 Giugno (H1), 7Luglio (H2) e 13 Luglio (H3)] ed innestata su 4 portinnesti (Ishtara, Mr.S. 2/5, GF 677 e Barrier 1). Ciascun valore rappresenta la media di 20 repliche. Medie seguite da lettere uguali non sono significativamente differenti per $P=0,05$, a seguito dell'analisi dell'ANOVA a 2 vie, con l'epoca di raccolta ed il portinnesto come fonti di variabilità.

| | | H1 | H2 | H3 |
|------------------|-----------|----------|----------|----------|
| PF (g) | Ishtara | 128.0 de | 168.5 bc | 198.2 a |
| | Mr.S.2/5 | 107.3 f | 143.4 d | 169.6 bc |
| | GF 677 | 128.1 e | 163.6 c | 184.4 ab |
| | Barrier 1 | 115.7 ef | 164.0 c | 186.3 ab |
| FF (kg) | Ishtara | 5.6 cd | 4.4 ef | 2.4 g |
| | Mr.S.2/5 | 7.0 b | 4.9 de | 2.4 g |
| | GF 677 | 6.0 c | 4.5 ef | 2.5 g |
| | Barrier 1 | 8.3 a | 5.9 cd | 3.1 fg |
| SSC (°Brix) | Ishtara | 10.5 b | 10.6 bc | 11.7 a |
| | Mr.S.2/5 | 10.5 b | 10.8 b | 11.5 ab |
| | GF 677 | 10.0 c | 10.2 c | 10.3 bc |
| | Barrier 1 | 9.8 c | 10.3 c | 12.0 a |
| TA (meq/100mL) | Ishtara | 13.0 c | 12.1 d | 9.1 f |
| | Mr.S.2/5 | 13.3 c | 11.5 de | 10.5 e |
| | GF 677 | 14.6 b | 13.4 c | 12.0 d |
| | Barrier 1 | 16.7 a | 14.7 b | 12.4 cd |
| Sovraccolore (%) | Ishtara | 60.0 c | 70.3 b | 80.7 a |
| | Mr.S.2/5 | 53.7 d | 61.3 bc | 76.9 a |
| | GF 677 | 57.7 cd | 66.0 b | 70.4 b |
| | Barrier 1 | 27.3 e | 50.7 d | 69.3 b |

Sempre in **Tabella 5.4** sono riportati i valori del colore di fondo della buccia, stimati con analisi visiva e soggettiva. I valori più alti erano raggiunti nei frutti provenienti dai portinnesti di minor vigoria (Ishtara e Mr.S 2/5), probabilmente perché questi PI, durante la maturazione dei frutti, ricevevano più alti livelli di radiazione luminosa all'interno della chioma. I frutti del Barrier 1 presentavano una maturazione piuttosto lenta, come dimostrato dai più alti valori di consistenza della polpa e di acidità titolabile e da quelli più bassi del contenuto in solidi solubili e del colore di fondo dell'epidermide, alla prima ed alla seconda raccolta.

5.2.2. Capacità antiossidante

La capacità antiossidante totale, come pure il contenuto dei differenti composti organici ad azione fitochimica, era misurata nella polpa (**Figura 5.11A**) e nella buccia (**Figura 5.11B**) dei frutti in funzione del portinnesto e dell'epoca di raccolta. Il range dei valori di FRAP determinati per le due frazioni era molto simile.

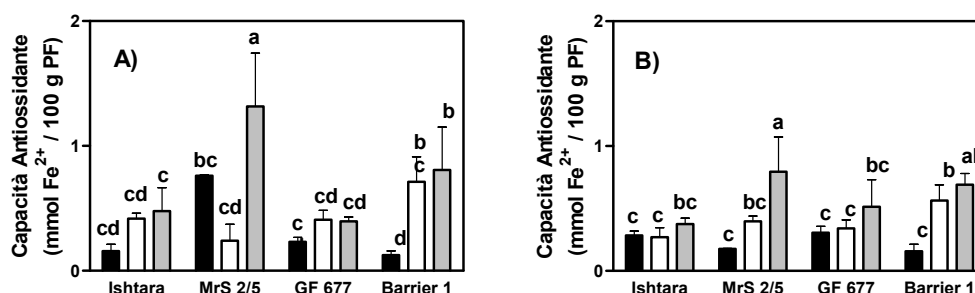


Figura 5.11. Capacità antiossidante totale, determinata con il metodo FRAP nella polpa (**A**) e nella buccia (**B**) di pesche, cultivar Flavorcrest, innestata su 4 portinnesti (Ishtara, Mr.S. 2/5, GF 677 e Barrier 1) e raccolte in tre epoche [30 Giugno (barra nera), 7 Luglio (barra bianca) e 13 Luglio (barra grigia)]. I valori sono le medie di 4 repliche e sono riportate anche le rispettive deviazioni standard. Medie seguite da lettere uguali non sono significativamente differenti per l'ANOVA a 2 vie, con il tipo di portinnesto e l'epoca di raccolta come fattori di variabilità.

I valori della capacità antiossidante aumentavano in maniera significativa, sia nella polpa che nella buccia, in funzione dell'epoca di raccolta soltanto per i frutti dell'Mr.S. 2/5 e del Barrier 1 (**Figura 5.11A e B**), i quali esibivano i valori più elevati ad H3. Questi risultati mostravano l'importanza, sia del portinnesto che dell'epoca di raccolta sulle caratteristiche nutrizionali dei frutti. Non ci sono molti studi che trattano dell'influenza del portinnesto e dell'epoca di raccolta sulle proprietà nutrizionali ed antiossidanti dei frutti. I nostri risultati mostravano che il portinnesto Mr.S. 2/5 produceva i frutti con la più alta capacità antiossidante totale alla terza epoca di raccolta, probabilmente a causa delle sue caratteristiche di indurre bassa vigoria. In tal senso, però, Ishtara, un altro portinnesto debolmente vigoroso, mostrava, contrariamente all'Mr.S. 2/5, i più bassi valori di capacità antiossidante in frutti raccolti ad H1 e H3. Il Barrier 1, un portinnesto ad alta vigoria, era caratterizzato da valori di FRAP più alti di quelli di Ishtara, in frutti raccolti ad H2 e H3. Dai risultati ottenuti non è perciò possibile discernere un legame tra la vigoria del portinnesto e la capacità antiossidante.

L'epoca di raccolta influenzava la capacità antiossidante totale dei frutti di Flavorcrest in modo simile, per i differenti portinnesti. Sia nella buccia che nella polpa, i valori del FRAP erano significativamente più alti nei frutti raccolti ad H3, rispetto a quelli relativi alle due raccolte precedenti (H1 e H2). Questi risultati indicano, quindi, come l'epoca di raccolta costituisca un importante fattore in grado di influenzare e condizionare la qualità nutrizionale dei frutti. Conseguentemente, la scelta del momento migliore per la raccolta rappresenta un elemento cruciale da prendere in considerazione per ottenere frutti dalle elevate caratteristiche qualitative, essenziali non solo per le tecnologie di post-raccolta, ma anche e, soprattutto, per soddisfare le aspettative ed indirizzare la scelta del consumatore. L'epoca di raccolta intermedia (H2) e quella tardiva (H3) sembrano essere le migliori sia dal punto di vista delle caratteristiche organolettiche che nutrizionali. I risultati ottenuti mostrano, quindi, come la capacità antiossidante rappresenti un importante parametro che dovrebbe essere tenuto in considerazione al momento della raccolta per ottenere frutti dalle elevate caratteristiche nutrizionali.

5.2.3. Fenoli totali

La Figura 5.12. mostra il contenuto in fenoli, separatamente nelle due frazioni (polpa-A e buccia-B) del frutto. La concentrazione dei composti fenolici determinata nella buccia (**Figura 5.12B**) era due volte maggiore di quella determinata nella polpa (**Figura 5.12A**).

I fenoli della buccia diminuivano durante la maturazione dei frutti sulla pianta, cosicché valori più elevati erano registrati alla prima raccolta (H1), per tutti i portinnesti, eccetto che per il Barrier 1 (**Figura 5.12A**). La riduzione del contenuto in fenoli della polpa potrebbe essere attribuito ad una serie di alterazioni chimiche ed enzimatiche di alcune tipologie di composti fenolici che si verificano durante la maturazione dei frutti. Queste alterazioni comprendono l'idrolisi dei glicosidi ad opera delle glicosidasi, l'ossidazione dei fenoli per mezzo delle polifenolossidasi e la polimerizzazione dei fenoli liberi (Robards et al., 1999).

Non è possibile generalizzare relativamente alla sintesi dei fenoli nella buccia. In Barrier 1 si registrava un incremento del contenuto in

fenoli alla seconda raccolta, mentre nella buccia dei frutti di Mr.S. 2/5 e GF 677, l'incremento era osservato ad H3 (**Figura 5.12 B**).

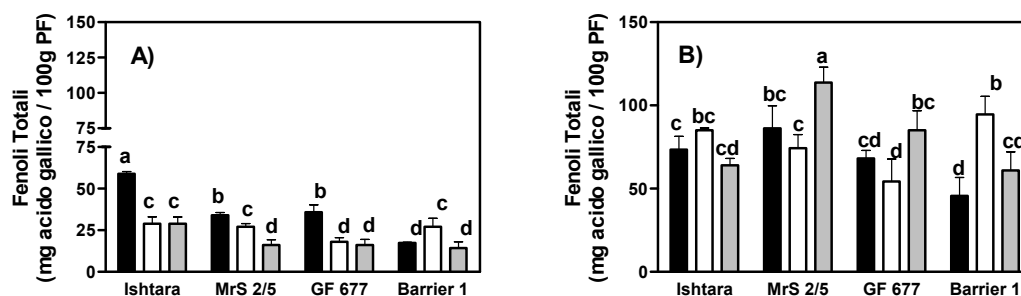


Figura 5.12. Contenuto in fenoli totali nella polpa (**A**) e nella buccia (**B**) di pesche, cultivar Flavorcrest, innestata su 4 portinnesti (Ishtara, Mr.S. 2/5, GF 677 e Barrier 1) e raccolte in tre epoche [30 Giugno (barra nera), 7 Luglio (barra bianca) e 13 Luglio (barra grigia)]. I valori sono le medie di 4 repliche e sono riportate anche le rispettive deviazioni standard. Medie seguite da lettere uguali non sono significativamente differenti per l'ANOVA a 2 vie, con il tipo di portinnesto e l'epoca di raccolta come fattori di variabilità.

Nei frutti provenienti da Ishtara, non si osservava nessuna differenza significativa nel contenuto in fenoli della buccia durante la maturazione. Il più alto contenuto nei fenoli della buccia era registrato nelle pesche del portinnesto Mr.S. 2/5 alla terza raccolta (**Figura 5.12B**).

Dai risultati ottenuti, non è possibile delineare un chiaro trend per quel che riguarda la concentrazione dei fenoli, in relazione al tipo di portinnesto e al processo di maturazione. Tutto ciò è conforme con studi precedenti (Tomas-Barberan et al., 2001) che non mostravano un andamento generale in grado di correlare il contenuto in fenoli con lo stadio di maturazione. Appare evidente come il contenuto in sostanze fenoliche della buccia sia notevolmente più alto rispetto a quello determinato nella polpa, indipendentemente dal portinnesto o dall'epoca di raccolta. Questo risultato è in accordo con quanto riportato in letteratura. Tomas-Barberan et al. (2001) trovarono che i tessuti dell'epidermide di pesche, nettarine e susine possedevano quantitativi maggiori di acidi idrossicinnamici, antocianine e flavonoli rispetto alla polpa. Questi autori trovarono anche che il contenuto in fitochimici nella buccia era generalmente 2-3 volte più elevato di quello della polpa. Toor e Savage (2005) registrarono, nella buccia di pomodoro, livelli di fenoli totali e di flavonoidi più alti di quelli determinati nella polpa. Kondo et al. (2002)

riportarono in differenti cultivar di melo una concentrazione più bassa di polifenoli nella polpa rispetto alla buccia. Li et al. (2006) mostrarono come il contenuto in fenoli, flavonoidi e proantocianidine, nella buccia del melograno, fosse notevolmente più elevato di quello della polpa. L'accumulo dei composti fenolici nei tessuti dell'epidermide dei frutti è certamente imputabile al loro ruolo nella protezione contro le radiazioni ultraviolette, alla loro azione di attrazione nei confronti degli insetti pronubi per permettere la dispersione dei semi e alla loro funzione di difesa chimica nei confronti di alcuni patogeni e predatori (Dixon e Paiva, 1995).

5.2.4. Acido ascorbico

La vitamina C era determinata solo nei frutti di prima e terza raccolta, anch'essa nelle due frazioni, polpa e buccia ed i risultati ottenuti sono riportati in **Figura 5.13**.

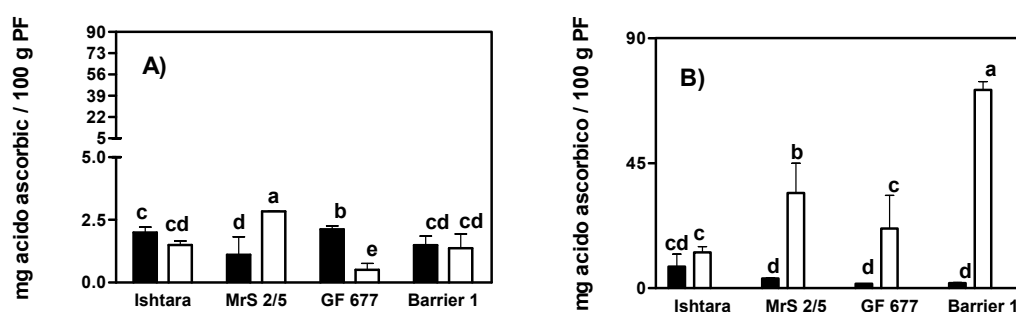


Figura 5.13. Contenuto in vitamina C nella polpa (**A**) e nella buccia (**B**) di pesche, cultivar Flavorcrest, innestata su 4 portinnesti (Ishtara, Mr.S. 2/5, GF 677 e Barrier 1) e raccolte in due epoche [30 Giugno (barra nera) e 13 Luglio (barra bianca)]. I valori sono le medie di 4 repliche e sono riportate anche le rispettive deviazioni standard. Medie seguite da lettere uguali non sono significativamente differenti per l'ANOVA a 2 vie, con il tipo di portinnesto e l'epoca di raccolta come fattori di variabilità.

Anche per questo importante fitochimico, risultava come la sua concentrazione nella buccia fosse notevolmente più alta, circa 25 volte ($P < 0,05$), rispetto a quella determinata nella polpa del frutto. I valori più alti di vitamina C nella polpa erano registrati per i frutti di Mr.S 2/5 alla terza raccolta (**Figura 5.13A**); mentre il più alto livello di vitamina C nella buccia era determinato nelle pesche di Barrier 1, anch'esso ad H3 (**Figura 5.13B**).

In generale, il contenuto di vitamina C nella buccia aumentava gradualmente, passando dalla prima alla terza raccolta, per ciascun

portinnesto. Nella polpa, invece, il contenuto in vitamina C non variava, nel corso della maturazione, in nessun portinnesto. Tuttavia, bisogna ricordare come, per la pesca, i quantitativi di vitamina C registrati, sia nella polpa che nella buccia, siano relativamente bassi, se comparati a quelli di altri frutti, come kiwi ed arance per cui le variazioni sono in realtà minime da poter essere considerate trascurabili. La vigoria del portinnesto non influenzava il contenuto in vitamina C, mentre l'interazione portinnesto ed epoca di maturazione determinava variazioni. In particolare, nel GF 677 si evidenziava una riduzione del contenuto in vitamina C in frutti raccolti tardivamente, mentre nell'Mr.S. 2/5 si osservava un significativo incremento. Questo comportamento è ben noto per altri frutti, come le fragole, nelle quali l'acido ascorbico, praticamente pari a zero quando il frutto è ancora verde, aumenta notevolmente quando il frutto è pienamente maturo (Maas et al., 1995).

5.2.5. β -Carotene

In **Figura 5.14**, è riportato il contenuto di β -carotene nella polpa (**A**) e nella buccia (**B**).

Come per gli altri fitochimici analizzati, anche per il β -carotene i valori più elevati erano riscontrati nella buccia, nell'ordine di 4-5 volte maggiori rispetto a quelli determinati nella polpa. Questo risultato è ampiamente conosciuto, come riportato anche da Rogriguez-Amaya (1993).

Negli estratti di polpa, i più alti livelli di β -carotene erano registrati nei frutti di Ishtara, Mr.S. 2/5 E Barrier 1 (**Figura 5.14A**), mentre, nella buccia, il valore più elevato era riscontrato per Mr.S. 2/5 alla terza raccolta (**Figura 5.14B**). Più difficile da comprendere risulta essere il comportamento osservato per l'Ishtara ed il GF 677, nei quali riduzioni significative nel contenuto di β -carotene erano registrate nei frutti di seconda raccolta.

La composizione qualitativa e quantitativa dei carotenoidi è influenzata da molti fattori, quali il genotipo, lo stadio di maturazione, le condizioni climatiche, la frazione del frutto considerata, le manipolazioni che avvengono in post-raccolta e le condizioni di conservazione. Tra

questi, lo stadio di maturazione è indubbiamente uno dei fattori che più fortemente influenza il contenuto in β -carotene nelle pesche, il quale aumenta, in linea generale, durante la maturazione dei frutti, a seguito di un incremento del processo di carotenogenesi che si verifica proprio in questo periodo (Rodriguez-Amaya, 1993).

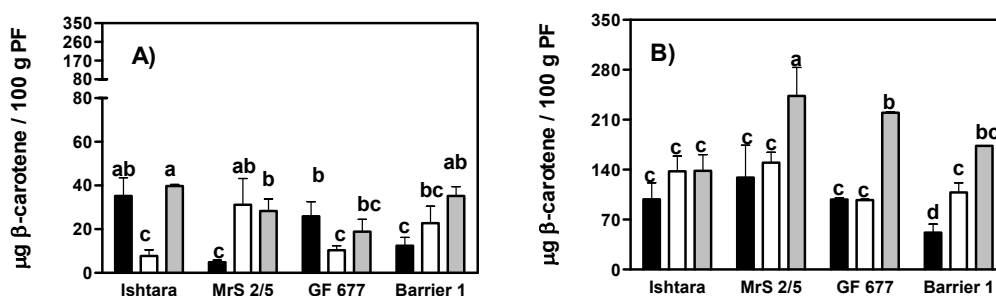


Figura 5.14. Contenuto in β -carotene nella polpa (A) e nella buccia (B) di pesche, cultivar Flavorcrest, innestata su 4 portinnesti (Ishtara, Mr.S. 2/5, GF 677 e Barrier 1) e raccolte in tre epoche [30 Giugno (barra nera), 7 Luglio (barra bianca) e 13 Luglio (barra grigia)]. I valori sono le medie di 4 repliche e sono riportate anche le rispettive deviazioni standard. Medie seguite da lettere uguali non sono significativamente differenti per l'ANOVA a 2 vie, con il tipo di portinnesto e l'epoca di raccolta come fattori di variabilità.

I risultati ottenuti in questo studio dimostrano come la capacità antiossidante ed i livelli di alcuni fitochimici siano significativamente influenzati da tipo di portinnesto, anche se non era possibile definire un comportamento comune in termini di vigoria. Infatti, portinnesti con vigoria simile producevano frutti con caratteristiche nutrizionali molto diverse, ad indicare che l'effetto del portinnesto è molto più complesso della semplice induzione di una bassa o alta vigoria. Studi precedenti (Giorgi et al., 2005; Tsipouridis e Thomidis, 2005) hanno sottolineato il ruolo chiave del portinnesto nel determinare la qualità della produzione e le caratteristiche nutraceutiche dei frutti. Come riportato da Scalzo et al. (2005) l'effetto del portinnesto sulla qualità nutrizionale dei frutti è strettamente correlato all'interazione del portinnesto con la disponibilità di acqua e di elementi minerali nel suolo.

5.2.6. Correlazione tra la capacità antiossidante ed il contenuto in fitochimici

È stata determinata la correlazione tra la capacità antiossidante totale ed il contenuto dei costituenti organici analizzati, così da identificare quale tra questi contribuiva in maggior misura al potenziale antiossidante dei frutti di

pesco studiati. I composti fenolici ed il β -carotene erano gli unici costituenti della polpa ad essere positivamente correlati con la capacità antiossidante totale nei frutti di Barrier 1 (**Tabella 5.5**). Questo risultato è interessante in quanto il portinnesto Barrier 1 produceva frutti caratterizzati da bassi contenuti in fenoli totali, se comparati con quelli prodotti dagli altri portinnesti. Questo indica che i fenoli sintetizzati nei frutti di Barrier 1 possedevano elevate proprietà antiossidanti. Ciò conferma nuovamente come non sia importante solo la quantità dei composti fenolici, ma soprattutto la loro struttura chimica nel determinare la capacità antiossidante totale. Per quanto riguarda gli altri portinnesti, nessuna correlazione significativa era trovata nella polpa tra i valori del FRAP ed i fitochimici analizzati.

Tabella 5.5. Correlazioni tra la capacità antiossidante (mmol Fe^{2+} /100 g PF) e la vitamina C (mg/100 g PF), fenoli (mg acido gallico/100 g PF) e β -carotene (μg /100 g PF) nella polpa e nella buccia di pesche di Flavorcrest innestate su 4 portinnesti (Ishtara, Mr.S. 2/5, GF 677 e Barrier 1). NS: $P>0,05$; *: $P<0,05$; **: $P<0,01$; ***: $P<0,001$.

| | Vitamina C | Fenoli | β -carotene |
|------------------------------|----------------|--------------|-------------------|
| Ishtara | NS | NS | NS |
| Mr. S 2/5 | NS | NS | NS |
| FRAP_{polpa} | | | |
| GF 677 | NS | NS | NS |
| Barrier 1 | NS | * (r = 0.82) | * (r = 0.79) |
| Ishtara | NS | NS | * (r = 0.77) |
| Mr. S 2/5 | ** (r = 0.97) | * (r = 0.82) | *** (r = 0.96) |
| FRAP_{buccia} | | | |
| GF 677 | * (r = 0.94) | * (r = 0.82) | * (r = 0.87) |
| Barrier 1 | *** (r = 0.99) | * (r = 0.81) | *** (r = 0.98) |

Nella buccia, era osservata una correlazione significativa tra la capacità antiossidante ed i differenti composti bioattivi, in tutti i portinnesti, ad eccezione dell'Ishtara che era caratterizzato da bassi contenuti in vitamina C e fenoli totali. Il fatto che le correlazioni nella buccia erano significative indica che questa frazione del frutto gioca un ruolo chiave nel

determinare le proprietà antiossidanti dell'intero frutto, dal momento che i fitochimici responsabili della capacità antiossidante sono principalmente localizzati proprio nella buccia. La buccia, infatti, contiene elevate quantità di fitochimici, addirittura in misura maggiore rispetto a quelle riscontrabili nella polpa. Wolf et al. (2003) riportavano come la buccia della mela possedesse una concentrazione di composti fenolici ed un'attività antiossidante più elevate della polpa; allo stesso modo, Al-Wandawi et al. (1985) e Toor e Savage (2005) mostravano come la buccia del pomodoro contenesse quantitativi di licopene maggiori sia della polpa che dei semi. Questo è vero anche per la pesca: Tomas-Barberan et al. (2001) e Gil et al. (2002) mostravano come la buccia fosse caratterizzata da livelli di composti fenolici, di carotenoidi e di acido ascorbico significativamente più elevati di quelli riscontrati nella polpa del frutto.

5.3 Risultati terzo anno

Il lavoro del terzo anno era finalizzato allo studio dell'influenza del portinnesto e del deficit idrico su alcune caratteristiche organolettiche e nutrizionali dei frutti della cultivar Suncrest.

5.3.1. Potenziale Idrico

Nella **Tabella 5.6** sono riportati i valori del potenziale idrico, espresso in MPa determinati sui fusti della cultivar Suncrest innestata su 3 diversi portinnesti. Non era registrata nessuna interazione tra il management idrico ed il tipo di portinnesto. D'altro lato, il regime idrico adottato (piante irrigate e non irrigate) induceva cambiamenti significativi nel potenziale idrico ($P < 0,001$). Le piante che non avevano ricevuto nessun tipo di irrigazione a partire dagli inizi di Giugno sino alla fine della stagione di crescita mostravano i più bassi valori di potenziale idrico.

5.3.2. Caratteristiche organolettiche

Le caratteristiche organolettiche (peso fresco, consistenza della polpa, contenuto in solidi solubili, acidità titolabile e sovraccalore) sono riportate in **Tabella 5.7**.

La gestione dell'irrigazione influenzava significativamente il peso fresco, la consistenza della polpa, il contenuto in solidi solubili e l'acidità titolabile. Infatti, il peso fresco delle pesche provenienti dalle piante di controllo mostravano valori più alti rispetto a quelli dei frutti delle piante stressate, fatta eccezione per le pesche del portinnesto Penta, per le quali non erano trovate differenze significative (**Tabella 5.7.**).

Tabella 5.6. Potenziale idrico (MPa), misurato a mezzogiorno, in fusti della cultivar Suncrest innestata su 3 differenti portinnesti (GF 677, Montclar and Penta). Il controllo rappresenta le piante normalmente irrigate, mentre lo stress idrico è rappresentato da piante che non hanno ricevuto nessun tipo di irrigazione dall'inizio di Giugno sino alla fine della stagione di crescita. L'effetto del management idrico era significativo per $P < 0,001$ (***)

| Portinnesto | Controllo | Stress idrico |
|-------------|-------------------|-------------------|
| GF 677 | $-0,90 \pm 0,042$ | $-1,25 \pm 0,100$ |
| Montclar | $-1,02 \pm 0,105$ | $-1,58 \pm 0,202$ |
| Penta | $-0,98 \pm 0,071$ | $-1,54 \pm 0,164$ |

Allo stesso modo, i frutti dei controlli erano caratterizzati da una minore consistenza rispetto a quelli sottoposti a stress idrico, ad eccezione delle pesche provenienti dal Penta, che non mostravano differenze per quel che riguarda la consistenza (**Tabella 5.7.**).

Il contenuto in solidi solubili era influenzato dalla gestione dell'irrigazione solo per i frutti del portinnesto Montclar: i valori più elevati erano registrati nelle pesche delle piante stressate (**Tabella 5.7.**).

Infine, il sovraccolore della buccia non era influenzato dal deficit idrico, in nessuno dei tre portinnesti utilizzati nella prova (**Tabella 5.7.**).

Dall'analisi delle caratteristiche organolettiche emergeva come il portinnesto influenzasse tali indici. I differenti portinnesti possono infatti influenzare la struttura della chioma e, in questo modo, la luce, che penetra all'interno della chioma, può variare fortemente. La luce è il fattore chiave ambientale che influenza la crescita, la dimensione del frutto, la pigmentazione, il contenuto in solidi solubili ed il peso fresco (Robinson et al., 1983). In particolare, i risultati di questo studio, mostravano come il

Tabella 5.7. Peso fresco, consistenza della polpa (FF), contenuto in solidi solubili (SSC), acidità titolabile (TA) ad sovraccolore (valutazione visiva) in frutti di pesco cultivar Suncrest, innestata su 3 differenti portinnesti (GF 677, Montclar e Penta). Il controllo rappresenta piante normalmente irrigate, mentre lo stress idrico rappresenta le piante che non hanno ricevuto irrigazione dall'inizio di Giugno alla fine della stagione di crescita. Ciascun valore rappresenta la media di 15 repliche \pm la deviazione standard. Medie seguite da lettere uguali non sono significativamente differenti per $P = 0,05$, a seguito dell'analisi dell'ANOVA a due vie, con il portinnesto e la gestione dell'irrigazione come fattori di variabilità.

| | | Peso (g) | FF (N) | SSC (°Brix) | TA (meq mL⁻¹) | Sovraccolore |
|----------|---------------|-------------------------------|----------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|---------------------------|
| GF 677 | controllo | 210.02 \pm 25.514 a | 3.53 \pm 1.049 c | 16.59 \pm 1.711 ab | 0.86 \pm 0.136 ab | 5.90 \pm 1.969 a |
| | stress idrico | 188.13 \pm 13.917 b | 7.35 \pm 1.637 b | 15.86 \pm 1.294 b | 1.17 \pm 0.084 ab | 6.17 \pm 1.472 a |
| Montclar | controllo | 202.84 \pm 25.556 ab | 9.41 \pm 2.832 a | 16.03 \pm 0.966 b | 1.07 \pm 0.242 ab | 6.30 \pm 0.949 a |
| | stress idrico | 144.94 \pm 20.761 c | 4.31 \pm 0.872 c | 17.55 \pm 0.892 a | 1.05 \pm 0.081 ab | 5.75 \pm 0.886 a |
| Penta | controllo | 219.51 \pm 18.464 a | 5.88 \pm 1.666 bc | 16.01 \pm 1.164 b | 0.79 \pm 0.116 b | 6.40 \pm 1.174 a |
| | stress idrico | 208.97 \pm 21.459 a | 6.57 \pm 1.078 b | 15.64 \pm 1.161 b | 1.25 \pm 0.241 a | 6.80 \pm 1.229 a |

portinnesto influenzasse la consistenza della polpa, il contenuto in solidi solubili, ma non il peso fresco, l'acidità titolabile ed il sovraccolore.

Il deficit idrico determinava una significativa riduzione nel peso fresco dei frutti di GF 677 e Montclar. Allo stesso modo, il deficit idrico influenzava la consistenza dei frutti, in particolare era osservato un significativo incremento nella FF dei frutti di GF 677 4 Montclar. Al contrario, i frutti di Penta non presentavano differenze nella FF, in relazione ai trattamenti irrigui.

L'acidità titolabile era influenzata dal deficit idrico solo nei frutti del Penta; in questo portinnesto, infatti, si registravano i più alti valori di TA nei frutti provenienti da piante sottoposte a stress idrico.

Besset et al. (2001) notarono che, quando era applicato uno stress idrico severo, il peso medio dei frutti diminuiva fortemente ed il contenuto in solidi solubili aumentava significativamente. L'aumento e l'accumulo dei solidi solubili è una risposta fisiologica allo stress idrico ed è stata dimostrata nel caso di molte colture come le pesche (Besset et al., 2001), le ciliegie (Ranney et al., 1991), le fragole (Zhang e Archbold, 1993) e le mele (Wang e Stutte, 1992). Besset et al. (2001) osservarono come lo stress idrico applicato nella fase finale di rapida crescita delle pesche rappresentasse il momento migliore per l'applicazione dello stress. Infatti, in questo periodo lo stress idrico non aveva effetti sulla crescita vegetativa e sull'induzione a fiore delle piante; questo significava che lo stress idrico applicato in questa fase non comprometteva la produzione degli anni successivi.

5.3.3. Composti fenolici

In questo studio, era valutata anche l'influenza del portinnesto e del deficit idrico sul contenuto in acidi idrossicinnamici, antocianine e procianidine. I cromatogrammi, per mezzo dell'HPLC, degli estratti di pesca erano determinati a 320 nm per gli acidi idrossicinnamici, a 510 nm per le antocianine e a 280 nm per le procianidine.

I cromatogrammi registrati a 320 nm mostravano due picchi principali, con spettri UV caratteristici dei derivati dell'acido caffeico. Il primo picco coincideva con quello dello standard dell'acido clorogenico,

mentre il secondo era identificato come acido neoclorogenico. In tutti i casi (per ciascun portinnesto e per ciascuna condizione di irrigazione) la quantità di acido clorogenico era superiore a quella dell'acido neoclorogenico. Il più alto contenuto in acidi idrossicinnamici totali (**Figura 5.15**) era registrato nei frutti provenienti dalle piante sottoposte a stress idrico del GF 677 (circa 35 mg di acido clorogenico per kg di peso fresco). Nessuna differenza significativa era osservata nel contenuto in acidi idrossicinnamici dei frutti di Montclar e Penta, né nel controllo né nelle piante stressate (**Figura 5.15**).

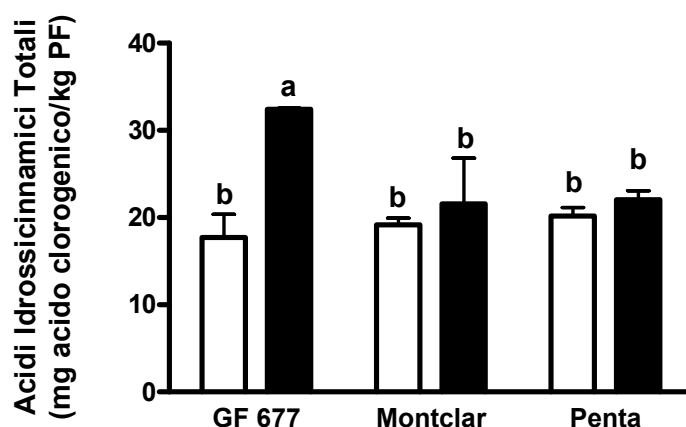


Figura 5.15. Contenuto in acidi idrossicinnamici totali in frutti di pesco, cultivar Suncrest, innestata su tre portinnesti (GF 677, Montclar e Penta) e sottoposta a due differenti regimi di irrigazione [(normalmente irrigato (barra bianca) e non irrigato (barra nera)]. I valori sono le medie di 4 repliche e sono riportate anche le rispettive deviazioni standard. Medie seguite da lettere uguali non sono significativamente differenti per l'ANOVA a 2 vie, con il tipo di portinnesto e il management idrico come fattori di variabilità.

I cromatogrammi registrati a 510 nm mostravano che l'estratto di polpa delle pesche studiate conteneva antocianine; il pigmento principale è stato identificato nella cianidina-3-glucoside ($[M-H]^+$, m/z 447). Nei frutti provenienti dal Penta e dal GF 677, il contenuto in antocianine era generalmente più elevato nelle pesche derivanti dalle piante sottoposte a stress rispetto a quello delle pesche dei controlli (**Figura 5.16**). In particolare, i frutti del Penta provenienti dalle piante stressate erano caratterizzate dalle concentrazioni più elevate di antocianine (28 mg/kg

PF). Nei frutti del Montclar, lo stress idrico non influenzava il contenuto totale di antocianine (**Figura 5.16**).

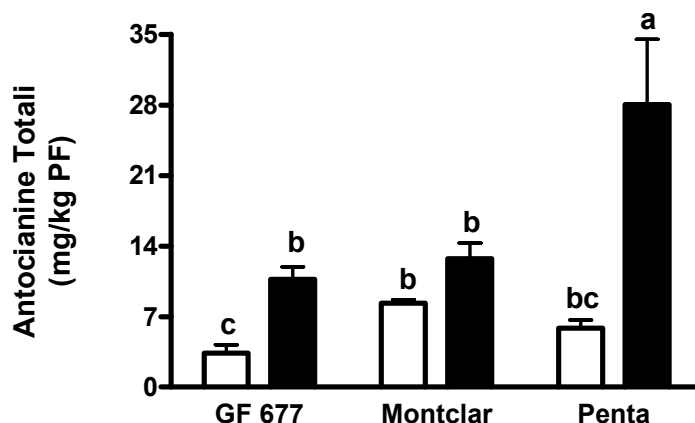


Figura 5.16. Contenuto in antocianine totali in frutti di pesco, cultivar Suncrest, innestata su tre portinnesti (GF 677, Montclar e Penta) e sottoposta a due differenti regimi di irrigazione [normalmente irrigato (barra bianca) e non irrigato (barra nera)]. I valori sono le medie di 4 repliche e sono riportate anche le rispettive deviazioni standard. Medie seguite da lettere uguali non sono significativamente differenti per l'ANOVA a 2 vie, con il tipo di portinnesto e il management idrico come fattori di variabilità.

Nei cromatogrammi registrati a 280 nm e negli spettri ottenuti attraverso l'HPLC-MS, era individuata anche la presenza delle procianidine. Il principale tra questi composti fu identificato nella catechina, attraverso il confronto con uno standard puro ed il suo spettro MS che mostrava il frammento m/z 289, tipico della catechina. Attraverso lo spettro MS, erano anche individuati l'addotto della catechina, che mostrava il caratteristico frammento m/z 413. Inoltre, si osservava anche la presenza dell'epicatechina e dei dimeri, dei trimeri e dei tetrameri delle procianidine, anche se questi composti non sono stati completamente identificati.

Il contenuto di catechina era generalmente più alto rispetto a quello della epicatechina. I frutti del Penta, derivanti da piante di controllo (**Figura 5.17**), mostravano il più alto valore di procianidine totali (688 mg/kg peso fresco). Solo per questo portinnesto, la gestione dell'irrigazione influenzava il contenuto delle procianidine totali, il quale era significativamente ridotto.

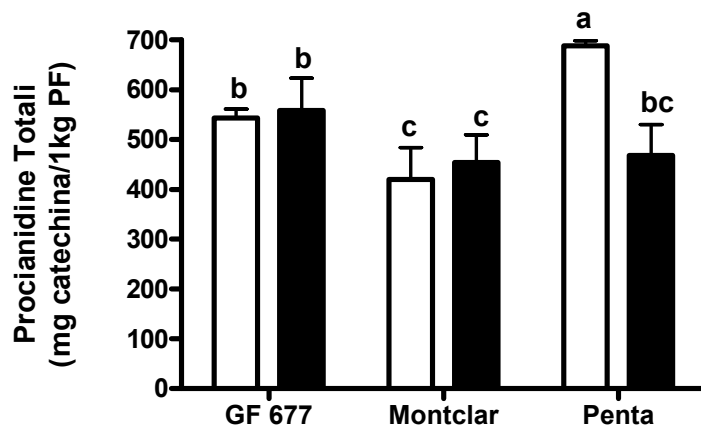


Figura 5.17. Contenuto in procianidine totali in frutti di pesco, cultivar Suncrest, innestata su tre portinnesti (GF 677, Montclar e Penta) e sottoposta a due differenti regimi di irrigazione [normalmente irrigato (barra bianca) e non irrigato (barra nera)]. I valori sono le medie di 4 repliche e sono riportate anche le rispettive deviazioni standard. Medie seguite da lettere uguali non sono significativamente differenti per l'ANOVA a 2 vie, con il tipo di portinnesto e il management idrico come fattori di variabilità.

Le pesche del portinnesto Montclar mostravano i valori più bassi di concentrazione di procianidine totali (419-454 mg/kg peso fresco), per entrambe le condizioni di irrigazione (**Figura 5.17**).

I risultati ottenuti mostrano come la gestione dell'irrigazione sia in grado di influenzare la sintesi dei composti antiossidanti nei frutti di pesco. È stato, infatti, dimostrato che la qualità e la quantità dell'acqua di irrigazione influenza significativamente i livelli di fitochimici in numerosi frutti ed ortaggi. Generalmente, un ridotto rifornimento d'acqua, durante la coltivazione delle piante, può incrementare il contenuto di fitochimici, quali i derivati degli acidi idrossicinnamici e le antocianine. È stato osservato che i composti organici ad azione antiossidante erano molto sensibili al contenuto idrico del suolo e che essi raggiungevano livelli elevati quando le piante erano sottoposte a condizioni di stress idrico (Mitchell et al., 1991).

Le strategie correlate alla creazione di situazioni di deficit idrico rappresentano oggi nuovi strumenti nella gestione delle pratiche di coltivazione e di crescita delle colture e possono essere efficacemente utilizzati per aumentare la qualità dei frutti e per un uso ponderato dell'acqua. Quest'ultimo aspetto è, infatti di cruciale importanza,

soprattutto nelle regioni di produzione del Mediterraneo, dove, sfortunatamente, l'acqua rappresenta oggi una risorsa limitante. Molti autori (Crisosto et al., 1994; Johnson et al., 1992; Johnson et al., 1994) hanno studiato la possibilità di ridurre le quantità d'acqua applicate durante la stagione di crescita nella coltivazione del pesco, senza ridurre la performance e la produzione delle piante. È stato osservato che gli effetti di una restrizione dell'uso dell'acqua d'irrigazione nella fase finale di rapido accrescimento del frutto erano i migliori in termini di qualità dei frutti (Crisosto et al., 1994; Kobashi et al., 1997; Bussi et al., 1999; Besset et al., 2001).

Un'importante caratteristica organolettica dei frutti è l'astringenza che può essere determinata mediante il grado di polimerizzazione (DP) delle proantocianidine. Questo rapporto fornisce informazioni anche sulla reattività delle molecole; quando il grado di polimerizzazione è basso, le molecole sono maggiormente reattive e conferiscono una maggior astringenza. Nella **Tabella 5.8** sono riportati i valori di tale rapporto, per ciascun portinnesto e per ognuna delle due tesi irrigue.

Table 5.8. Grado di Polimerizzazione (DP) in frutti di pesco cultivar Suncrest, innestata su 3 differenti portinnesti (GF 677, Montclar and Penta). Il controllo rappresenta piante normalmente irrigate, mentre lo stress idrico rappresenta le piante che non hanno ricevuto alcun tipo di irrigazione dall'inizio di Giugno fino alla fine della stagione di crescita. L'effetto del portinnesto era significativo per $P < 0,001$ (***).

| Portinnesto | Controllo | Stress Idrico |
|-------------|------------------|------------------|
| GF 677 | $3.73 \pm 0,386$ | $3.55 \pm 0,276$ |
| Montclar | $6.28 \pm 0,375$ | $5.81 \pm 0,317$ |
| Penta | $5.76 \pm 0,827$ | $5.91 \pm 0,771$ |

I frutti del GF 677, provenienti sia da piante irrigate che non irrigate, mostravano il più basso grado di polimerizzazione. Questo indica che le pesche di questo portinnesto sono caratterizzate da un'astringenza maggiore rispetto ai frutti prodotti del Penta o dal Montclar, determinata dai valori più elevati di DP rispetto a quelli del GF 677. Questi risultati

indicavano come il grado di polimerizzazione fosse strettamente dipendente dal tipo di portinnesto adottato.

6. CONCLUSIONI

I risultati ottenuti in questa tesi di dottorato hanno evidenziato l'importanza di molteplici fattori nel determinare gli aspetti qualitativi e salutistici dei prodotti frutticoli. In seguito alla Rivoluzione Fitochimica è notevolmente cambiato il concetto di alimentazione nei Paesi sviluppati, per cui l'alimento oggi non determina solo l'assunzione delle calorie e delle molecole organiche necessarie per la sopravvivenza, ma anche tutta una serie di composti attivamente coinvolti nella prevenzione e/o cura di numerose patologie. Questi composti sono tipicamente definiti fitochimici in virtù del fatto che vengono sintetizzati principalmente, se non esclusivamente alcuni di essi, dagli organismi vegetali. Sono tipicamente le molecole organiche utilizzate dalle piante per le interazioni ecologiche con l'ambiente in cui esse vivono e, quindi, per la difesa contro erbivori o microrganismi, nell'attrazione di insetti pronubi, per la competizione intraspecifica, per la risposta agli stress abiotici, ecc. e definiti nel loro complesso metaboliti secondari. Il metabolismo secondario è quindi fortemente modulato dagli agenti biotici ed abiotici che interagiscono con l'organismo vegetale e per tale motivo la composizione quali-quantitativa di questi composti nelle specie agrarie è enormemente influenzata da numerosi fattori di pre- e post-raccolta.

In virtù di tutto ciò questa ricerca si inserisce in un contesto più ampio finalizzato allo studio degli effetti dei numerosi fattori in fase di pre- e post-raccolta che possono significativamente influenzare la composizione fitochimica di frutta e verdura. Nello specifico, è emerso come la scelta del portinnesto potesse influenzare la qualità finale delle pesche così come nell'ambito di diverse varietà di questo frutto registravamo notevoli differenze nel contenuto in fenoli e carotenoidi.

I risultati hanno evidenziato anche come era difficile delineare un comportamento comune nell'ambito di portinnesti caratterizzati dalla medesima vigoria o all'interno di cultivar appartenenti ai diversi gruppi di pesche a polpa gialla, a polpa bianca, di percoche o di nettarine.

Questo sottolinea come il background genetico sia un fattore fondamentale nella definizione della qualità salutistica di un frutto, intesa non solo nella concentrazione di fitochimici ma, e soprattutto, nella composizione qualitativa di questi.

La caratterizzazione del contenuto in molecole organiche antiossidanti dei frutti potrebbe rappresentare la base di partenza nei programmi di miglioramento genetico al fine di selezionare nuove cultivar.

Questo lavoro ha infatti sottolineato come la capacità antiossidante di un frutto non dipenda esclusivamente dalla concentrazione di un singolo fitochimico, ma piuttosto dalla struttura chimica del composto stesso. E' stato infatti registrato come frutti caratterizzati da un più alto contenuto in composti fenolici non mostravano un'altrettanta elevata capacità antiossidante.

Anche la maturazione rappresenta un importante parametro da tenere in considerazione per ottenere frutti dalle elevate caratteristiche nutrizionali. La maturazione è un processo caratterizzato da un insieme di reazioni biochimiche, fisiologiche e strutturali in grado di influenzare le proprietà nutraceutiche ed organolettiche del frutto stesso. Per questo motivo la scelta di un'epoca ottimale di raccolta rappresenta un momento importante della filiera produttiva in quanto da essa dipendono direttamente le caratteristiche organolettiche finali del frutto, ma certamente anche quelle salutistiche. In ragione di ciò i dati ottenuti sul kiwi hanno evidenziato come un ritardo della raccolta determinasse una riduzione del contenuto in vitamina C e carotenoidi mentre non aveva alcuna influenza sulla capacità antiossidante totale dei frutti. L'epoca di raccolta gioca inoltre un ruolo notevole sul processo di rammollimento (*softening*) della polpa dei frutti. Questo fenomeno determina un sostanziale peggioramento della qualità di un frutto e soprattutto incide notevolmente sul suo valore commerciale. I dati ottenuti hanno evidenziato come il ritardo nella raccolta dei frutti influenzasse negativamente tale parametro. In particolare, nei frutti di kiwi sono state studiate le attività di due importanti enzimi coinvolti nel processo di softening, la poligalatturonasi e le β -galattosidasi ed i risultati ottenuti hanno evidenziato un incremento nell'attività delle PG, soprattutto al

termine di un periodo di conservazione a temperatura ambiente che seguiva il breve periodo (2 mesi) di frigoconservazione. D'altra parte questo risultato collima perfettamente con la riduzione della consistenza della polpa registrata mediante penetrometro.

E' stato visto come la conservazione in post-raccolta influenzasse significativamente le proprietà dei frutti di kiwi. I risultati hanno dimostrato come la frigoconservazione, sia di breve (2 mesi) che di lungo (6 mesi) periodo, avesse un effetto negativo sulla capacità antiossidante totale così come sul contenuto in acido ascorbico, fitochimico questo estremamente importante nel kiwi. Il lungo periodo di frigoconservazione, invece, determinava un incremento nel contenuto totale di fenoli, fenomeno imputabile probabilmente a variazioni a carico del metabolismo dei fenilpropanoidi come, ad esempio, l'attivazione dell'enzima fenilalanina ammonio liasi, associata a disordini che si verificano durante la conservazione a basse temperature.

Un risultato sorprendente è stato l'incremento del contenuto in acido ascorbico e sostanze fenoliche a seguito del mantenimento dei frutti di kiwi per una settimana a temperatura ambiente. Probabilmente ciò era imputabile all'incremento della temperatura che poteva determinare l'attivazione dei sistemi enzimatici legati al processo di rammollimento, come peraltro dimostrato per le PG

Tuttavia, appare evidente come i diversi fattori interagiscano tra di loro nell'influenzare le proprietà nutritive di un frutto. Infatti, in questo studio la modalità di conservazione era analizzata insieme ad altri fattori come l'esposizione alla luce o l'epoca di raccolta. D'altra parte è anche vero che durante l'accrescimento e la maturazione di un frutto difficilmente uno solo tra i molteplici fattori può avere effetti a prescindere dagli altri. Per tale ragione, le interazioni tra i diversi fattori di pre- o post-raccolta studiati in questo lavoro e che costituiscono solo alcune tra le variabili in gioco, forniscono solo un'idea della complessità di questi studi che tuttavia rappresentano una solida base di partenza scientifica per la comprensione dei meccanismi coinvolti nella definizione del valore salutistico dei frutti.

Occorre sottolineare come i risultati ottenuti abbiano anche evidenziato come talvolta frutti con ottimali proprietà nutraceutiche

presentassero scadenti caratteristiche organolettiche. Questo rende ancora più complesso l'argomento tenendo conto che oggi giorno il consumatore, se da un lato richiede prodotti con elevati contenuti nutritivi, dall'altro alla base della scelta del frutto risiedono ancora le proprietà immediatamente percepibili al momento dell'acquisto e che, ovviamente, sono legate esclusivamente alle caratteristiche organolettiche.

Un altro dato interessante è stata l'acquisizione del diverso contenuto in sostanze fitochimiche nelle due frazioni, polpa e buccia, del frutto di pesco. In particolare, è emerso come la buccia fosse caratterizzata da contenuti significativamente maggiori di carotenoidi, fenoli e vitamina C rispetto alla polpa, anche se la capacità antiossidante totale delle due frazioni era simile. Questo non deve sorprendere in quanto, ad esempio, l'accumulo dei fenoli nella buccia è imputabile al loro ruolo nella risposta agli stress biotici ed abiotici.

In questa ricerca l'unico fattore di stress ambientale analizzato è stato il management idrico nel pesco, cv Suncrest. Si è dimostrato come uno stress idrico di blanda intensità ed applicato nella fase finale di accrescimento del frutto, influenzasse significativamente sia le caratteristiche organolettiche come la pezzatura ed il contenuto in solidi solubili (classica risposta fisiologica allo stress idrico), sia alcuni importanti composti fenolici come gli acidi idrossicinnamici, le antocianine e le procianidine. Anche in questo caso non ottenevamo una risposta univoca a causa dei diversi portinnesti considerati. Ancora una volta ciò dimostra la complessità dell'interazione tra le diverse componenti in gioco. E' comunque possibile concludere come le strategie di gestione dell'irrigazione rappresentino un importante mezzo sia per ottenere frutti dalle elevate caratteristiche qualitative sia per ridurre l'uso di questa importante risorsa che, sfortunatamente, nelle zone del Mediterraneo, sta diventando un fattore limitante per le colture.

In conclusione, dai risultati riportati appare evidente come molteplici fattori possano influenzare la composizione qualitativa dei prodotti frutticoli. Molti di questi fattori possono essere convenientemente utilizzati in fase di pre-raccolta mediante la scelta di genotipi caratterizzati da un più elevato contenuto in fitochimici e/o da una elevata capacità

antiossidante. E' ovvio come anche le pratiche colturali influenzino le caratteristiche salutistiche degli alimenti, per cui sarebbe opportuno adottare quelle che incrementano la concentrazione dei fitochimici o della capacità antiossidante del prodotto. E' indubbio che le scelte debbano comunque valutare anche gli effetti sulle caratteristiche organolettiche del prodotto frutticolo (colore, acidità, solidi solubili, durezza, ecc.) in modo da raggiungere un buon equilibrio tra l'aspetto esteriore del prodotto, determinante per la scelta del consumatore, e quello salutistico, non immediatamente percepibile ma altrettanto desiderato.

7. BIBLIOGRAFIA

- Alasalvar, C.; Grigor, J.M.; Zhang, D.; Quantick, P.C.; Shahidi, F. (2001). Comparison of volatiles, phenolic, sugars, antioxidant vitamins and sensory quality of different colored carrot varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 1410-1418.
- Alba, R.; Cordonnier-Pratt, M.M.; Pratt, L.H. (2000). Fruit-localized phytochromes regulate lycopene accumulation independently of ethylene production in tomato. *Plant Physiology*, 123: 363-370.
- Albas, E.S.; Jmenez, S.; Aparicio, J.; Betran, J.A.; Moreno, M.A. (2004). Effect of several peach x almond hybrid rootstocks on fruit quality of peaches. *Acta Horticulturae*, 658: 321-326.
- Ali, Z.M.; Bardy, C.J. (1982). Purification and characterization of the polygalacturonases of tomato fruits. *Australian Journal of Plant Physiology*, 9: 155-169.
- Alimelli, A.; Pennazza, G.; Sintonico, M.; Paolesse, R.; Filippini, D.; D'Amico A.; Lundstrom, I.; Di Natale, C. (2007). Fish freshness detection by a computer screen photoassisted based gas sensor array. *Analytical Chimica Acta*, 582: 320-328.
- Al-Wandawi, H.; Abdul-Rahman, M.; Al-Shaikhly, K. (1985). Tomato processing wastes as essential raw material sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33: 804-807.
- Amiot, M.-J.; Tourniaire, F.; Margotat, A. (2006). Flavonoids in food and wine. FAV Health, 2005. QC, Canada, *Acta Horticulturae*, in stampa.
- Antognozzi, E.; Boco, M.; Famiani, F.; Palliotti, A.; Tombesi, A. (1995). Effect of different light intensity on quality and storage life of kiwifruit. *Acta Horticulturae*, 379: 483-490.
- Anttonen, M.J.; Hoppula, K.I.; Nestby, R.; Verheul, M.J.; Karjalainen, R.O. (2006). Influence of fertilization, mulch color, early forcing, fruit order, planting date, shading, growth environment, and genotype on the contents of selected phenolics in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 2614-2620.
- Anttonen, M.J.; Karjalainen, R.O. (2005). Environmental and genetic variation of phenolics compounds in red raspberry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18: 759-769.
- Arias, R.; Lee, T.C.; Logendra, L.; Janes, H. (2000). Correlation of lycopene measured by HPLC with the L^* , a^* , b^* color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 1697-1702.
- Auerswald, H.; Drews, M.; Krumbein, A. (1996). Der einfluss unterschiedlicher anbauverfahren auf merkmale der inneren qualitat von gewachshaustomaten im jahresverkauf. *Gartenbauwiss*, 61: 77-83.
- Awika, J.M.; Rooney, L.W.; Wu, X.; Prior, R.L.; Cisneros-Zevallos, L. (2003). Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 6657-6662.
- Ayala-Zavala, J.F.; Wang, S.Y.; Wang, C.Y.; Gonzales-Aguilar, A.G. (2004). Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 37: 687-695.
- Balde, A.M.; Debruyne, T.; Pieters, L.; Kolodziej, H.; Berghe, D.V.; Claeys, M.; Vlietinck, A. (1995). Oligomeric proanthocyanidins possessing a doubly linked structure from Pavetta owariensis. *Phytochemistry*, 719-723.
- Beever, D.J.; Hopkirik, G. (1990). Fruit development and fruit physiology. In: Warrington I.J.e Weston G.C. (eds.), *Kiwifruits: Science and management*. Ray Richards Publisher and NZ Society for Horticultural Science, Auckland, pp.97-126.
- Bellini, E.; Nencetti, V.; Ntarelli, L.; Liverani, A.; Insero, O.; Conte, L. (2004). Pesco. *L'Informatore Agrario*, Supplemento, 24: 53-69.
- Bendini, A.; Cerretani, L.; Carrasco-Pancorbo, A.; Gomez-Caravaca, A.M.; Segura-Carretero, A.; Fernandez-Gutierrez, A.; Lercker, G. (2007). Phenolic molecules in virgin olive oils: a survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity, and analytical methods. An overview of the last decade. *Molecules*, 12: 1679-1719.
- Benzie, I.F.F. (1999). Prospective functional markers for defining optimal nutritional status: vitamin C. *Proceedings of the Nutrition Society*, 58: 1-8.

- Benzie, I.F.F.; Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 329: 70-76.
- Benzie, I.F.F.; Strain, J.J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299: 15-27.
- Benzie, I.F.F.; Szeto, Y.T. (1999). Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 633-636.
- Besset, J.; Genard, M.; Girard, T.; Serra, V.; Bussi, C. (2001). Effect of water stress applied during the final stage of rapid growth on peach trees (cv. Big-Top). *Scientia Horticulturae*, 91: 298-303.
- Betancourt, L.A.; Stevens, M.A.; Kader, A.A. (1977). Accumulation and loss of sugars and reduced ascorbic acid in attached and detached tomato fruits. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 102: 721-723.
- Biasi, R.; Costa, G.; Manson, P.J. (1997). Light influence on kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) quality. *Acta Horticulturae*, 379: 245-252.
- Bielicki, P.; Czynczyk, A.; Chlebowska, D. (2000). Effect of a rootstock and tree location on yield and fruit quality of "King Jonagold" apples. *Journal of Fruit Ornamental Plant Research*, 8: 65-71.
- Block, G.; Patterson, B.; Subar, A. (1992). Fruit, vegetables and cancer prevention: a review of epidemiological evidence. *Nutrition Cancer*, 18: 1-29.
- Blount, B.C.; Mack, M.M.; Wehr, C.M.; MacGregor, J.T.; Hiatt, R.A.; Wang, G.; Wickramasinghe, S.N.; Everson, R.B.; Ames, B.N. (1997). Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94: 3290-3295.
- Bonghi, C.; Pagni, S.; Vidrih, R.; Ramina, A.; Tonutti, P. (1996). Cell wall hydrolases and amylase in kiwifruit softening. *Postharvest Biology and Technology*, 9: 19-29.
- Bors, W.; Heller, W.; Michel, C.; Stettmaier, K. (1996). Flavonoids and polyphenols: chemistry and biology. In: *Handbook of antioxidants*. E. Cadenas and L. Packer (Eds.), pp. 409-446. New York, USA: Dekker.
- Bourn, D.; Prescott, J. (2001). A comparison of the nutritional value, sensory qualities, and food safety of organically and conventionally produced food. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 42: 1-34.
- Boyer, J.; Liu, R.H. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*, 3: 2-15.
- Brandt, K.; Molgaard, J.P. (2001). Organic agriculture: does it enhance or reduce the nutritional value of plant foods? *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 924-931.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 28: 25-30.
- Britton, G.W. (1995). Structure and properties of carotenoids in relation to function. *The FASEB Journal*, 9: 1551-1558.
- Bryant, J.P.; Chapin, F.S.; Klein, D.R. (1983). Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos*, 40: 357-368.
- Burns, J.; Yokota, T.; Ashihara, H.; Lean, M.E.J.; Crosier, A. (2002). Plant foods and herbal sources of resveratrol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3337-3340.
- Bussi, C.; Huguet, J.G.; Besset, J.; Girard, T. (1999). Irrigation scheduling of an early maturing peach cultivar using tensiometers and diurnal changes in stem diameter. *Fruits*, 54: 57-66.
- Butler, L.G. (1989). Effects of condensed tannins on animal nutrition. In: *Chemistry and Significance of Condensed Tannins*. R.W. Hemmingway and J.J. Karchesy (Eds.), pp. 391-402. Plenum Press, New York.
- Calixeto, G.W. (1998). Antioxidant dietary fiber product: a new concept and a potential food ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4303-4306.
- Cao, G.; Alessio, H.M.; Cutler, R.G. (1993). Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 14: 303-311.

- Carrasco-Pancorbo, A.; Cerretani, L.; Bendini, A.; Segura-Carretero, A.; Lercker, G.; Fernandez-Gutierrez, A. (2007). Evaluation of the influence of thermal oxidation on the phenolic composition and on the antioxidant activity of extra-virgin olive oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 4771-4780.
- Caruso, G.; Villari, A.; Villari, G. (2004). Quality characteristics of "Fragaria vesca L." fruits influenced by NFT solution, EC and shading. *Acta Horticulturae*, 648: 167-174.
- Carratù, B.; Sanzini, E. (2005). Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale. *Annali dell'Istituto Superiore della Sanità*, 41 (1): 7-16.
- Caruso, T.; Giovannini, D.; Liverani, A. (1996). Rootstock influences the fruit mineral, sugar and organic acid content of a very early ripening peach cultivar. *Journal of Horticultural Science*, 71: 931-937.
- Caruso, T.; Inglese, P.; Sidari, M.; Sottile, F. (1997). Rootstock influences seasonal dry matter and carbohydrate content and partitioning in above-ground components of "Flordaprince" peach trees. *Journal of the American Society and Horticultural Science*, 122: 673-679.
- Cevallos-Casals, B.A.; Byrne, D.; Okie, W.R.; Cisneros-Zevallos, L. (2006). Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compounds and enhanced functional properties. *Food Chemistry*, 96: 273-280.
- Chang, S.; Tan, C.; Frankel, E.N.; Barrett, D.M. (2000). Low-density lipoprotein antioxidant activity of phenolic compounds and polyphenol oxidase activity in selected clingstone peach cultivar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 147-151.
- Chen, X.; Ahn, D.U. (1998). Antioxidant activity of six natural phenolics against lipid oxidation induced by Fe²⁺ or ultraviolet light. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75: 1717-1721.
- Chernomorsky, S.; Segelman, A.; Poretz, R.D. (1999). Effect of dietary chlorophyll derivatives on mutagenesis and tumor cell growth. *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis*, 19: 313-322.
- Choi, S.W.; Friso, S.; Ghandour, H.; Bagley, P.J.; Selhub, J.; Mason, J.B. (2004). Vitamin B-12 deficiency induces anomalies of base substitution and methylation in the DNA of rat colonic epithelium. *The Journal of Nutrition*, 134: 750-755.
- Chun, J.; Fallahi, E. (2001). The influence of spacing and rootstock on foliar mineral nutrition and fruit quality of "Fuji" apple trees. *Journal of the Korean Society for Horticultural Science*, 42: 621-624.
- Clifford, M.N. (1986). Phenol-protein interactions and their possible significance for astringency. In: *Interaction of Food Components*. G.G. Birch e M.G. Lindley (Eds), pp. 143-164. Elsevier Applied Science, London.
- Clifford, M.N. (1997). Astringency. In: *Phytochemistry of Fruits and Vegetables*. F.A. Tomas-Barberan and R.J. Robins (Eds), pp.87-107. Clarendon Press, Oxford.
- Clifford, M.N.; Scalbert, A. (2000). Ellagitannins – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 1118-1125.
- Connor, A.M.; Luby, J.J.; Hancock, J.F.; Berkheimer, S.; Hanson, E.J. (2002c). Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during cold-temperature storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 893-898.
- Connor, A.M.; Luby, J.J.; Tong, C.B.S. (2002b). Variability in antioxidant activity in blueberry and correlations among different antioxidant activity assays. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127: 238-244.
- Connor, A.M.; Luby, J.J.; Tong, C.B.S.; Finn, C.E.; Hancock, J.F. (2002a). Genotypic and environmental variation in antioxidant activity, total phenolic content, and anthocyanin content among blueberry cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127: 89-97.
- Costa, G.; Noferini, M. (2003). Un aggiornamento sulle possibili applicazioni della spettroscopia NIRs in frutticoltura. Nuovi sviluppi nelle tecniche di valutazione della qualità dei prodotti ortofrutticoli freschi. *MACFRUIT*, Cesena, 10 Maggio 2003.
- Cravo, M.L.; Pinto, A.G.; Chaves, P.; Cruz, J.A.; Lage, P.; Nobre Leitao, C.; Costa Mira, F. (1998). Effect of folate supplementation on DNA methylation of rectal mucosa in patients with colonic adenomas: correlation with nutrient intake. *Clinical Nutrition*, 17: 45-49.
- Crisosto, C.H.; Johnson, R.S.; DeJong, T.; Day, K.R. (1997). Orchard factors affecting postharvest stone fruit quality. *Horticultural Science*, 32: 820-823.

- Crisosto, C.H.; Johnson, R.S.; Luza, J.G.; Crisosto, G.M. (1994). Irrigation regimes affect fruit soluble solids content and the rate of water loss of "O'Henry" peaches. *HortScience*, 29: 1169-1171.
- Crisosto, C.H.; Kader, A.A. (1999). Kiwifruit: post harvest quality maintenance guidelines. <http://www.uckac.edu/postharv/PDF%20files/Guidelines/kiwi.pdf>
- Crosby, K.; Jifon, J.; Leskovar, D. (2007). Agronomy and the nutritional quality of vegetable. In: *Improving the health-promoting properties of fruit and vegetable products*. F.A. Tomas-Barberan and M.I. Gil (Eds.), pp. 1-20, capitolo 18. Wood head Publishing Ltd.
- Croteau, R.; Kutchan, T.M.; Lewis, N.G. (2000). Natural products (secondary metabolites). In: *Biochemistry and Molecular Biology of Plant*. B.B. Buchanan, W. Gruissem and R.L. Jones (Eds), pp. 1250-1318. American Society of Plant Physiologists, Rockville, M.D.
- Crozier, A.; Lean, M.E.J.; McDonald, M.S.; Black, C. (1997). Quantitative analysis of flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce and celery. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 590-595.
- CTIFL (1997). Pesche. Consommation et itinéraire qualité. Editions centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Legumes.
- Dalla Valle, A.Z.; Mignani, I.; Spinardi, A.; Galvano, F.; Ciappellano, S. (2007). The antioxidant profile of three different peaches cultivars (*Prunus persica*) and their short-term effect on antioxidant status in human. *European Food Research Technology*, 225: 167-172.
- Degl'Innocenti, E.; Guidi, L.; Pardossi, A.; Tognoni, F. (2005). Biochemical study of leaf browning in minimally processed leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *acephala*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 9980-9984.
- Dewanto, V.; Wu, X.; Adom, K.K.; Liu, R.H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3010-3014.
- Dewick, P.M. (2002). *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, 2nd edn., John Wiley e Sons, Chichester.
- Dewick, P.M.; Haslam, E. (1969). Phenol biosynthesis in higher plants: gallic acid. *Biochemical Journal*, 113: 537-542.
- Dhu, Y.F.; Sun, J.; Wu, X.; Liu, R.H. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6910-6916.
- Di Natale, C.; Macagnano, A.; Davide, F.; D'Amico, A.; Paolesse, R.; Boschi, T.; Faccio, M.; Ferri, G. (1997). An electronic nose for food analyses. *Sensors Actuators B*, 44: 521-525.
- Di Vaio, C.; Buccheri, M.; Graziani, G.; Ritieni, A.; Scalfi, L. (2001). Attività antiossidante di frutti di pesco (cv. Maycrest). *Rivista di Frutticoltura e Orticoltura*, 7-8: 83-86.
- Dixon, R.A.; Paiva, N.I. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, 7: 1085-1097.
- Dominy, N.J.; Lucas, P.W. (2001). The ecological importance of trichromatic colour vision in primates. *Nature*, 410: 363-366.
- Dorais, M.; Papadopoulos, A.P.; Gosselin, A. (2001). Greenhouse tomato fruit quality: the influence of environmental and cultural factors. *Horticultural Reviews*, 26: 239-319.
- Drewnowsky, A. (1996). From asparagus to zucchini: mapping cognitive space for vegetable names. *Journal of the American College of Nutrition*, 15: 147-153.
- Dumas, Y.; Dadomo, M.; Di Lucca, G.; Grolier, P. (2003). Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83: 369-382.
- Duthie, G.G. (1993). Lipid peroxidation. *European Journal of Clinical Nutrition*, 47: 759-764.
- Egner, P.A.; Stansbury, K.H.; Snyder, E.P.; Rogers, M.E.; Hintz, P.A.; Kensler, T.W. (2000). Identification and characterization of chlorine (4) ethyl ester in sera of individuals participating in the chlorophyllin chemoprevention trial. *Chemical Research in Toxicology*, 13: 900-906.
- Egner, P.A.; Wang, J.B.; Zhu, Y.R.; Zhang, B.C.; Wu, Y.; Zhang, Q.N.; Qian, G.S.; Kuang, S.Y.; Gange, S.J.; Jacobson, L.P.; Helzlsouer, K.J.; Bailey, G.S.; Groopman, J.D.; Kensler, T.W. (2001). Chlorophyllin intervention reduces aflatoxin-DNA adducts

- in individuals at high risk for liver cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98: 14601-14606.
- Elliot, J.G. (1999). Application of oxidation vitamins in foods and beverages. *Food Technology*, 53: 46-48.
- Feeny, P. (1970). Seasonal changes in oak leaf tannins and nutrients as a cause of spring feeding by winter moth caterpillars. *Ecology*, 51: 565-581.
- Ferrari, C.K.B. (2000a). Free radicals, lipid peroxidation and antioxidants in apoptosis: implications in cancer, cardiovascular and neurological diseases. *Biologia*, 55: 579-588.
- Ferrari, C.K.B. (2000b). Apoptose: a importancia da maquinaria de morte celular no controle e na patogenese das doenças. *Revista Ciencia Medica*, 9: 21-31.
- Ferrari, C.K.B.; Torres, E.A.F.S. (2003). Biochemical pharmacology of functional food and prevention of chronic disease of aging. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 57: 251-260.
- Fisher, R.L.; Bennett, A.B.; (1991). Role of cell wall hydrolases in fruit ripening. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42: 675-703
- Fleischauer, A.T.; Arab, L. (2001). Garlic and cancer: a critical review of the epidemiologic literature. *The Journal of Nutrition*, 131: 1032S-1040S.
- Fleischauer, A.T.; Poole, C.; Arab, L. (2000). Garlic consumption and cancer prevention: meta-analyses of colorectal and stomach cancer. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72: 1047-1052.
- Fletcher, A.E.; Breeze, E.; Shetty, P.S. (2003). Antioxidant vitamins and mortality in older persons: findings from the nutrition add-on study to the medical research council trial of assessment and management of older people in the community. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78: 999-1010.
- Friedman, M. (2007). Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51: 116-134.
- Friedrich, M.; Rafi, L.; Mitschele, T.; Tilgen, W.; Schmidt, W.; Reichrath, J. (2003). Analysis of the vitamin D system in cervical carcinomas, breast cancer and ovarian cancer. *Recent Results in Cancer Research*, 164: 239-246.
- Foo, L.Y.; Karchesy, J.J. (1991). Procyanidin tetramers and pentamers from Douglas fir bark. *Phytochemistry*, 30: 667-670.
- Foo, L.Y.; Lu, Y.; McNabb, W.C.; Waghorn, G.; Ulyatt, M.J. (1997). Proanthocyanidins from *Lotus pedunculatus*. *Phytochemistry*, 45: 1689-1696.
- Foo, L.Y.; Porter, L.J. (1981). The structure of tannins of some edible fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 32: 711-716.
- Forlani, M.; Basile, B.; Cirillo, C.; Petito, A.; Ritieni, A.; Graziani, G. (2003). Contenuto in sostanze ed attività antiossidante nelle pesche: variabilità indotta da cultivar, stadio di maturazione e frigoconservazione. *Rivista di Frutticoltura e Orticoltura*, 7-8: 55-59.
- Gallego, P.P.; Zarra, I. (1997). Changes in cell wall composition and water-soluble polysaccharides during kiwifruit development. *Annals of Botany*, 79: 695-701.
- Gallego, P.P.; Zarra, I. (1998). Cell wall autolysis during kiwifruits development. *Annals of Botany*, 81: 91-96.
- Gandini, S.; Merzenich, H.; Robertson, C.; Boyle, P. (2000). Met-analysis of study on breast cancer risk and diet: the associated micronutrient. *European Journal of Cancer*, 36: 636-646.
- Garcia-Alonso, M.; de Pascual-Teresa, S.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, J.C. (2004). Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food chemistry*, 84: 13-18.
- Gerats, A.G.M.; Martin, C. (1992). Flavonoid synthesis in *Petunia hybrida*; genetics and molecular biology of flower colour. In: *Phenolic Metabolism in Plants*. H.A. Stafford and R.K. Ibrahim (Eds.), pp. 165-199. Plenum Press, New York.
- German, J.B.; Walzem, R.L. (2000). The health benefits of wine. *Annual Review of Nutrition*, 20: 561-593.
- Gil, M.I.; Aguayo, E.; Kader, A.A. (2006). Quality changes and nutrient retention in fresh-cut versus whole fruits during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 4284-4296.
- Gil, M.I.; Garcia-Viguera, C.; Artes, F.; Tomas-Barberan, F.A. (1995). Changes in pomegranate juice pigmentation during ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 68: 77-81.

- Gil, M.I.; Tomas-Barberan, F.A.; Hesse-Pierce, B.; Kader, A.A. (2002). Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach and plum cultivars from California. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 4976-4982.
- Giorgi, M.; Capocasa, F.; Scalzo, J.; Murri, G.; Battino, M.; Mezzetti, B. (2005). The rootstock effects on plant adaptability, production, fruit quality and nutrition in the peach (cv "Suncrest"). *Scientia Horticulturae*, 107: 36-42.
- Giovannoni, J.J.; DellaPenna, D.; Bennett, A.B.; Fisher, R. (1989). Expression of a chimeric polygalacturonase gene in transgenic rin (ripening inhibitor) tomato fruit results in polyuronide degradation but not fruit softening. *Plant Cell*, 1: 53-63.
- Giulivo, C.; Lain, O.; Pitacco, A. (1989). Effetti della combinazione d'innesto sulla crescita e sulla traspirazione di giovani alberi di melo. In: *I portinnesti delle piante da frutto*, Convegno Nazionale, pp. 31-40. 15-16 Dicembre, 1989, Ferrara.
- Giusti, A.M.; Bignetti, E.; Cannella, C. (2007). Exploring new frontiers in total food quality definition and assessment: from chemical to neurochemical properties. *Food and Bioprocess Technology*, 1: 130-142.
- Gross, G.G. (1992). Enzymes in the biosynthesis of hydrolysable tannins. In: *Plant Polyphenols*. R.W. Heminway, P.E. Laks and S.J. Branham (Eds), pp. 43-60. Plenum Press, New York.
- Guidoni, S.; Ferrandino, A.; Lovisolo, C.; Mondo, M.; Santovito, A.; Bounous, G.; Pellegrino, S.; Berra, L.; Monet, R. (1998). Modification on the relationship between fruit quality and vegetative behaviour induced by different rootstock in the peach cv. Suncrest. *Acta Horticulturae*, 465: 491-496.
- Guo, C.; Yang, J.; Wei, J.; Li, Y.; Xu, J.; Jiang, Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, 23: 1719-1726.
- Gutteridge, J.M. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41: 1819-1828.
- Guyot, S.; Marnet, N.; Laraba, D.; Sanoner, P.; Drilleau, J.F. (1998). Reversed-phase HPLC following thiolysis for quantitative estimation and characterization of the four main classes of phenolic compounds in different tissue zones of a French cider apple variety (*Malus domestica* Var. Kermerrien). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 1698-1705.
- Haborne, J.B. (1967). *Comparative Biochemistry of the Flavonoid*. Academic Press, London.
- Hakkinen, S.H.; Torronen, A.R. (2000). Content of flavonols and selected phenolics acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food Research International*, 33: 517-524.
- Halvorsen, B.L.; Holte, K.; Myhrstad, M.C.W.; Barikmo, I.; Hvattum, E.; Remberg, S.F.; Wold, A.-B.; Haffner, K.; Baugerod, H.; Frost Andersen, L.; Mostaug, J.Ø.; Jacobs, D.R.; Blomhoff, Jr.; Blomhoff R. (2002). A systematic screen of total antioxidants in dietary plants. *The Journal of Nutrition*, 132: 461-471.
- Hamner, K.; Berstein, L.; Maynard, L.A. (1945). Effects of light intensity, day length, temperature and other environment factors on the ascorbic acid content of tomatoes. *Journal of Nutrition*, 29: 85-97.
- Harman, J. E. (1981). Kiwifruit maturity. *The Orchardist of New Zealand*, 54: 126-130.
- Harris, R.S. (1975). Effects of agricultural practices on the composition of food. In: Harris R.S. e Karmas E. (eds.). *Nutritional Evaluation of Food Processing*, 2nd edizione, AVI, Westport, CT.
- Haslam, E. (1989). *Plant Polyphenols, Vegetable Tannins Revisited*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Haslam, E. (1998). Practical Polyphenolics: from structure to molecular recognition and physiological action. Cambridge University Press, UK.
- Haslam, E.; Lilley, T.H. (1988). Natural astringency in food stuffs. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 27: 1-40.
- Heber, D. (2004). Vegetables, fruits and phytoestrogens in the prevention of disease. *Journal of Postgraduate Medicine*, 50: 145-149.
- Heber, D.; Bowerman, S. (2001). What colour is your diet? New York: Harper Collins-Regan.

- Heller, W.; Forkmann, G. (1993). *Biosynthesis of flavonoids*. In: *The Flavonoids: Advances in Research since 1986*. J.B. Harborne (Ed.), pp. 499-535. Chapman & Hall, London.
- Hennekens, C.H.; Buring, J.E.; Manson, J.E.; Stampfer, M.; Rosner, B.; Cook, N.R.; Belanger, C.; LaMotte, F.; Gaziano, J.M.; Ridker, P.M.; Willett, W.; Peto, R. (1996). Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. *The New England Journal of Medicine*, 334: 1145-1149.
- Henning, B.; Toborek, M.; McClain, C.J.; Diana, J.N. (1996). Nutritional implications in vascular endothelial cell metabolism. *Journal of the American College of Nutrition*, 15: 345-358.
- Herrmann, K.M. (1995). The shikimate pathway: early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. *Plant Cell*, 7: 907-919.
- Hermes, D.A.; Mattson, W.J. (1992). The dilemma of plants: to grow or defend. *The Quarterly Review of Biology*, 67: 283-335.
- Hertog, M.G.L.; Feskens, E.J.M.; Hollman, P.C.H.; Katan, M.B.; Kromhout, D. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease the Zutphen Elderly Study. *Lancet*, 342: 1007-1011.
- Hertog, M.G.L.; Hollman, P.C.H.; Katan, M.B. (1992). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in The Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 2379-2383.
- Hertog, M.G.L.; Hollman, P.C.H.; van de Putte, B. (1993). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea, infusions, wines and fruit juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41: 1242-1246.
- Hewett, E.W.; Kim, H.O.; Lallu, N. (1999). Postharvest physiology of kiwifruit: the challenges ahead. *Acta Horticulturae*, 498: 203-216.
- Holasova, M.; Fiedlerova, V.; Smrcinova, H.; Orsak, M.; Lachman, J.; Vavreinova, S. (2002). Buckwheat – the source of antioxidant activity in functional foods. *Food Research International*, 35: 207-211.
- Holick, M.F. (2004). Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type I diabetes, heart disease and osteoporosis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79: 362-371.
- Howard, L.R.; Clark, J.R.; Brownmiller, C. (2003). Antioxidant capacity and phenolic content in blueberries as affected by genotype and growing season. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83: 1238-1247.
- Hsing, A.W.; Chokkalingam, A.P.; Gao, Y.T.; Madigan, M.P.; Deng, J.; Gridley, G.; Fraumeni, J.F.Jr. (2002). Allium vegetables and risk of prostate cancer: a population-based study. *Journal of the National Cancer Institute*, 94: 1648-1651.
- Hsing, A.W.; Comstock, G.W.; Abbey, H.; Polk, B.F. (1990). Serologic precursors of cancer. Retinol, carotenoids, and tocopherol and risk of prostate cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 82: 941-946.
- Hudson, B.J.F.; Lewis, L.I. (1983). Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oils. *Food Chemistry*, 10: 47-55.
- Ian, T.J. (2002). Glucosinolates: bioavailability and importance to health. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 71 (1): 26-31.
- Iannini, C.; Cirillo, C.; Basile, B.; Forlani, M. (2002). Estimation of peach yield efficiency and light interception by the canopy in different training system. *Acta Horticulturae*, 592: 357-366.
- Iglesias, I.; Salvia, J.; Torguet, L.; Montserrat, R. (2005). The evaporative cooling effects of overtree microsprinkler irrigation on "Mondial Gala" apples. *Scientia Horticulturae*, 103: 267-287.
- Imeh, U.; Khokhar, S. (2002). Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6301-6306.
- Ishikura, N.; Sugahara, K. (1979). A survey of anthocynins in fruits of some angiosperms. *Botanical Magazine Tokyo*, 92: 157-161.
- Jimenez-Escrig, A.; Rincon, M.; Pulido, R.; Saura-Calixto, F. (2001). Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 5489-5493.

- Johnson, R.S.; Handley, D.F.; Day, K.R. (1994). Postharvest water stress of an early maturing plum. *Journal of Horticultural Science*, 117: 881-886.
- Johnson, R.S.; Handley, D.F.; DeJong, T. (1992). Long-term response of early maturing peach trees to postharvest water deficit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 69: 1035-1041.
- Jones, C.G.; Hartley, S.E. (1999). A protein competition model of phenolic allocation. *Oikos*, 86: 27-44.
- Jovanovic, S.V.; Steenken, S.; Simic, M.C.; Hara, Y. (1998). Antioxidant properties of flavonoids: reduction potentials and electron transfer reactions of flavonoids radicals. In: Rice-Evans, C.A.; Packer, L. (eds), *Flavonoids in Health and Disease*. Marcel Dekker, New York, pp. 137-161.
- Ju, Z.; Duan, Y.; Ju Z. (1999). Effects of covering the orchard floor with reflecting films on pigment accumulation and fruit coloration in "Fuji" apples. *Scientia Horticulturae*, 82: 47-56.
- Jun, S.; Bangerth, F. (1996). The effect of harvest date on aroma compound production from golden delicious apple fruit and relationship to respiration and ethylene production. *Postharvest Biology and Technology*, 8: 259-268.
- Kabaluk, J.T.; Kempler, C.; Toivonen, P.M.A. (1997). *Actinida argata* – Characteristics relevant to commercial production. *Fruit Varieties Journal*, 51: 117-122.
- Kader, A.A. (1988). Influence of preharvest and postharvest environment on nutritional composition of fruits and vegetables. In: Quebedeaux, B.; Bliss, F.A. (Eds.), *Horticulture and Human Health: Contributions of Fruits and Vegetables*. Proceedings of the 1st International Symposium on Horticulture and Human Health. Upper Saddle River, New Jersey: Prentice Hall (USA), pp. 18-32.
- Kader, A.A.; Stevens, M.A.; Albright-Holten, M.; Morris, L.L.; Algazi, M. (1977). Effect of fruit ripeness when picked on flavour and composition in fresh market tomatoes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 102: 724-731.
- Kahkonen, M.P.; Hopia, A.I.; Vuorela, H.J.; Rauha, J.P.; Pihlaja, K.; Kujala, T.S.; Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plants extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 3954-3956.
- Kalt, W. (2005). Effect of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science*, 1: 11-19.
- Kampfenkel, K.; Van Montagu, M.; Inzé, D. (1995). Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue. *Analytical Biochemistry*, 225: 165-167.
- Kang, H.M.; Saltveit, M.E. (2002). Antioxidant capacity of lettuce leaf tissue increases after wounding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 7536-7541.
- Kaur, C.; Kapoor, H.C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*, 36: 703-725.
- Kennedy, J.A.; Jones, G.P. (2001). Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 1740-1746.
- Kiani, L. (2007). Natural miracles: what functional foods can do for you? *ProQuest Discovery Guides*, <http://www.csa.com/discoveryguides/discoveryguides-main.php>
- Kimura, Y.; Okuda, H.; Arichi, S. (1985). Effects of stilbenes on arachidonate metabolism in leukocytes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 834: 275-278.
- Klein, B.P.; Perry, A.K. (1982). Ascorbic acid and vitamin A activity in selected vegetables from differential geographical areas of the United States. *Journal of Food Science*, 47: 941-945.
- Knekt, P.; Jarvinen, R.; Reunanen, A.; Maatela, J. (1996). Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *British Medical Journal*, 312: 478-481.
- Kobashi, K.; Gemma, H.; Iwahori, S. (1997). Effect of water stress on fruit quality and endogenous abscisic acid content in peach fruit. *Environmental Control Biology*, 35: 275-282.
- Koes, R.E.; Quattrocchio, F.; Mol, J.N.M. (1994). The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. *BioEssay*, 16: 123-132.
- Kondo, S.; Tsuda, K.; Muto, N.; Ueda, J. (2002). Antioxidative activity of apples skin or flesh extracts associated with fruit development on selected apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 96: 177-185.
- Kuc, J. Relevance of phytoalexins: a critical review. *Acta Horticulturae*, 381: 526.

- Kurilic, A.C.; Jeffery, E.H.; Juvik, J.A.; Walling, M.A.; Klein, B.P. (2002). Antioxidant capacity of different broccoli (*Brassica oleracea*) genotypes using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5053-5057.
- Lamuela-Raventos, R.M.; Waterhouse, A.L. (1994). A direct HPLC separation of wine phenolics. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45: 1-5.
- Lancaster, J.E. (1992). Regulation of skin colour in apples: a review. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 10: 487-502.
- Lazan, H.; Ali, Z.M.; Liang, K.S.; Yee, K.L. (1989). Polygalacturonase activity and variation in ripening of papaya fruit with tissue depth and heat treatment. *Physiologia Plantarum*, 77: 93-98.
- Lee, K.W.; Lee, H.J.; Surh, Y.J.; Lee, C.Y. (2003). Vitamin C and cancer chemoprevention: reappraisal. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78: 1074-1078.
- Lee, S.K.; Kader, A.A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20: 207-220.
- Lee, Y.; Howard, L.R.; Villalon, B. (1995). Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annuum*) cultivars. *Journal of Food Science*, 60: 473-476.
- Le Marchand, L.; Donlon, T.; Hankin, J.H.; Kolonel, L.N.; Wilkens, L.R.; Seifried, A. (2002). B-vitamin intake, metabolic genes, and colorectal cancer risk (United States). *Cancer Causes & Control*, 13: 239-248.
- Leong, L.P.; Shui, G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*, 76: 69-75.
- Leontowicz, M.; Gorinstein, S.; Leontowicz, H.; Krzeminski, R.; Lojek, A.; Katrich, E.; Ciz, M.; Martin-Belloso, O.; Soliva-Fortuny, R.; Haruenkit, R.; Trakhtenberg, S. (2003). Apple and pear peel and pulp and their influence on plasma lipids and antioxidant potentials in rats fed cholesterol-containing diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 5780-5785.
- Leskovar, D.; Bang, H.; Crosby, K.M.; Maness, N.; Franco, J.A.; Perkins-Veazie, P. (2004). Lycopene, carbohydrates, ascorbic acid and yield components of diploid and triploid watermelon cultivars are affected by deficit irrigation. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 79: 75-81.
- Lester, G.E. (2006). Environmental regulation of human health nutrients (ascorbic acid, carotene and folic acid) in fruits and vegetables. *HortScience*, 41: 59-64.
- Lester, G.E.; Crosby, K.M. (2002). Ascorbic acid, folic acid and potassium content in post-harvest green-flesh honeydew muskmelons: influence of cultivar, fruit size, soil type and year. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 127: 843-847.
- Lester, G.E.; Eischen, F. (1996). Beta-carotene content of postharvest orange-fleshed muskmelon fruit: effect of cultivar, growing location and fruit size. *Plant Food for Human Nutrition*, 49: 191-197.
- Leung, F.Y. (1998). Trace elements that act as antioxidants in parenteral micro-nutrition. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 9:304-307.
- Li, Y.; Guo, C.; Yang, J.; Wei, J.; Xu, J.; Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 96: 254-260.
- Lindsay, R.C. (1996). In: *Food Chemistry*. O.R. Fennema (Ed.), pp. 723-765, Marcel Dekker: New York, Usa.
- Liu, R.H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78: 517S-520S.
- Loewus, F.A.; Loewus, M.W. (1987). Biosynthesis and metabolism of ascorbic acid in plants. *Critical Reviews in Plant Science*, 5: 101-119.
- Loft, S.; Otte, J.; Poulson, H.E.; Sorenson, H. (1992). Influence of intact and myrosinase-treated indolyl glucosinolates on the metabolism in vivo of metronidazole antitryptine in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 30: 927-935.
- Loreti, F.; Massai, R. (1999). I portinnesti del pesco. *L'Informatore Agrario*, 6: 39-44.
- Loreti, F.; Massai, R. (2002). I portinnesti del pesco. *L'Informatore Agrario*, 58: 36-42.
- Loreti, F.; Massai, R.; Morini, S. (1993). Relationship between effects of rootstock and planting system on nectarines. *Acta Horticulturae*, 349: 155-158.
- Lowry, O.H.; Roxebrough, N.J.; Farr, N.J.; Randall, R.J. (1951). Protein measurements with the Folin pheno reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193: 265-275.

- Luchsinger, L.; Ortin, P.; Reginato, G.; Infante, R. (2002). Influence of canopy fruit position on the maturity and quality of "Angelus" peaches. *Acta Horticulturae*, 592: 515-522.
- Luong, J.H.T.; Bouvrette, P.; Male, K.B. (1997). Developments and applications of biosensors in food analysis. *Trends in Biotechnology*, 15: 369-377.
- Ma, J.; Stampfer, M.J.; Giovannucci, E.; Artigas, C.; Hunter, D.J.; Fuchs, C.; Willett, W.C.; Selhub, J.; Hennekens, C.H.; Rozen, R. (1997). Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions, and risk of colonrectal cancer. *Cancer Research*, 57: 1098-1102.
- Maas, J.L.; Wang, S.L.; Galletta, G.G. (1995). Health enhancing properties of strawberry fruit. In: Pritts M.P.; Chandler C.K. e Crocker T.E. (eds), *IV Proceeding North American Strawberry Growers Conference*. Cainsville, University of Florida Press, pp. 11-18.
- MacRae, E.A.; Bowen, J.H.; Stec, M.G.H. (1989). Maturation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*, cv. Hayward) from two orchards: differences in composition of the tissue zones. *Journal of Food Science and Agriculture*, 47: 401-416.
- Madakadze, R.M., Kwaramba, J., 2004. Effect of preharvest factors on the quality of vegetables produced in the tropics. In: Dris, R., Jain, S.M. (Eds.), *Production Practices and Quality Assessment of Food Crops*, Vol. 1. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (The Netherlands), pp. 1-36.
- Marangoni, G.; Toselli, M.; Scudellari, D.; Briganti, S.; Neri, F.; Spada, G.L. (1993). Fertilizzazione del pesco e qualità. *Atti XXI Convegno Peschicolo*, pp. 201-209. Lugo 27-28 Agosto.
- Marini, R. (2002). Tree management for improving peach fruit quality. Review presented at the *Mild Atlantic Fruit and Vegetable Convention* in January 2002.
- Marini, R.P.; Sowers, D.; Marini, M.C. (1991). Peach fruit quality is affected by shade during final swell of fruit growth. *Journal of American Society and Horticultural Science*, 116: 383-389.
- Markham, K.R. (1982). Techniques of flavonoid identification. Academic Press, London.
- Marsh, K.; Attanayake, S.; Walker, S.; Gunson, A.; Bolding, H.; MacRae, E. (2004). Acidity and taste in kiwifruit. *Post-harvest Biology and Technology*, 32: 159-168.
- Martinez-Tellz, M.A.; Lafuente, M.T. (1997). Effect of high-temperature conditioning on ethylene, phenylalanine ammonia lyase, peroxidase and polyphenol oxidase activities in flavedo of Fortune mandarin fruit. *Journal of Plant Physiology*, 150: 674-678.
- Matern, U.; Grimming, B. (1994). Natural phenols as stress metabolites. *Acta Horticulturae*, 381: 448.
- Matthews, S.; Mila, I.; Scalbert, A.; Donnelly, D.M.X. (1997a). Extractible and non-extractible proanthocynidins in barks. *Phytochemistry*, 45: 405-410.
- Matthews, S.; Mila, I.; Scalbert, A.; Pollet, B.; Lapierre, C.; Hervé duPenhoat, C.L.M.; Rolando, C.; Donnelly, D.M.X. (1997b). Method for estimation of proanthocyanidins based on their acid depolymerization in the presence of nucleophiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 1195-1201.
- McCollum, J.P. (1954). Effects of light on the formation of carotenoids in tomato fruit. *Food Research*, 19: 182-189.
- McGlone, V.A.; Kawano, S. (1998). Firmness, dry-matter and soluble solids assessment of post-harvest kiwifruit by NIR spectroscopy. *Post-harvest Biology and Technology*, 13: 131-141.
- Menard, C.; Dorais, M.; Hovi, T.; Gosselin, A. (2005). Developmental and physiological responses of tomato and cucumber to additional blue light. *Acta Horticulturae*, 711: 291-294.
- Merzlyak, M.N.; Solovchenko, A.E.; Chivkunova, O.B. (2002). Patterns of pigment changes in apple fruits during adaptation to high sunlight and sunscald development. *Plant Physiology and Biochemistry*, 40: 679-684.
- Miller, N.J.; Rice-Evans, C.A. (1997). Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS radical cation assay. *Free Radical Research*, 26: 195-199.
- Minguzzi, A.; Castellani, L.; Campani, M.; Castellari, M. (2000). I criteri di definizione e valutazione della qualità. *Terra e Vita Supplemento*, 23: 26-40.

- Mitchell, J.P.; Shennan, C.; Grattan, S.R.; May, D.M. (1991). Tomato fruit yields and quality under water deficit and salinity. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 116: 215-221.
- Monici, M.; Baglioni, P.; Mulinacci, N.; Baldi, A.; Vincieri, F.F. (1994). A research model on flavonoids as photoprotectors: studies on the photochemistry of kaempferol and pelargonidin. *Acta Horticulturae*, 381: 340.
- Montanaro, G.; Dichio, B.; Xiloyannis, C.; Celano, G. (2006). Light influences transpiration and calcium accumulation in fruit of kiwifruit plants (*Actinidia deliciosa* var. *deliciosa*). *Plant Science*, 170: 520-527.
- Mosca, L.; De Marco, C.; Visioli, F.; Cannella, C. (2000). Enzymatic assay for the determination of olive oil polyphenol content: assay conditions and validation of the method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 297-301.
- Mozafar, A. (1994). Plant vitamins: agronomic, physiological, and nutritional aspects. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Muller, K.O. (1961). The phytoalexin concept and its methodological significance. *Recent Advances in Botany*, 1: 396-400.
- Nagy, S. (1980). Vitamin C contents of citrus fruit and their products: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28: 8-18.
- Navarro, J.M.; Flores, P.; Garrido, C.; Martinez, V. (2006). Changes in the content of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chemistry*, 96: 66-73.
- Nelson, J.W.; Barrieth, B.H.; Wolford, E.R. (1972). Influence of location and cultivar on color and chemical composition of strawberry fruit. *Washington Agricultural Experimental Station, Technical Bulletin*, 74: 1-7.
- Nishina, A.; Kuboto, K.; Kameoka, H.; Osawa, T. (1991). Anti oxidizing component, musizin, in *Rumex japonicus*. Houtt. *Journal American Oil Chemists Society*, 68: 735-739.
- Nishiyama, I. (2007). Fruits of actinida genus. *Advances in Food and Nutrition Research*, 52: 293-324.
- Nishiyama, I.; Yamashita, Y.; Yamanaka, M.; Shimohashi, A.; Fukuda, T.; Oota, T. (2004). Varietal difference in vitamin C content in the fruit of kiwifruit and other *Actinida* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 5472-5475.
- Nishiyama, I.; Fukuda, T.; Oota, T. (2005). Genotypic differences in chlorophyll, lutein, and β -carotene contents in the fruits on *Actinidia* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 6403-6407.
- Nishiyama, I.; Yamashita, Y.; Yamanaka, M.; Shimohashi, A.; Fukuda, T.; Oota, T. (2004). Varietal difference in vitamin C content in the fruit of kiwifruit and other *Actinidia* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 5472-5475.
- Nonaka, G.I.; Morimoto, S.; Nishioka, I. (1983). Tannins and related compounds. Part 13. Isolation and structures of trimeric, tetrameric and pentameric proanthocyanidins from cinnamon. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*: 2139-2145.
- Noth, D. (1989). Long shelf life food products. *Food Science Technology Today*, 3: 342.
- Ogawa, H.; Fukumoto, H.; Yano, T.; Yamamoto, T.; Tochikuna, T. (1990). Purification and characterization of β -galactosidase from kiwifruit. *Journal of Japanese Society of Food Science and Technology*, 37: 298-305.
- Omenn, G.S.; Goodman, G.E.; Thornquist, M.D.; Balmes, J.; Cullen, M.R.; Glass, A.; Keogh, J.P.; Meyskens, F.L.; Valanis, B.; Williams, J.H.; Barnhart, S.; Hammar, S. (1996). Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *The New England Journal of Medicine*, 334: 1150-1155.
- Ou, B.; Hampsch-Woodill, M.; Prior, R.L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 4619-4626.
- Ou, B.; Huang, D.; Hampsch-Woodill, M.; Flanagan, J.A.; Deemer, E.K. (2002). Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3122-3128.
- Papadopoulos, G.; Boskou, D. (1991). Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. *Journal of American Oil Chemical Society*, 68: 669-671.

- Papas, A.M. (1999). Vitamin E: tocopherols and tocotrienols. In Papas A.M. (ed.), *Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health*. Boca Raton, FL: CRC Press, pp. 189-210.
- Parks, B.M.; Folta, K.M.; Spalding, E.P. (2001). Photocontrol of stem growth. *Current Opinion in Plant Biology*, 4: 436-440.
- Patsias, A.; Chouliara, I.; Badeka, A.; Savvaidis, I.N.; Kontominas, M.G. (2006). Shelf-life of a chilled precooked chicken product stored in air and under modified atmospheres: microbiological, chemical, sensory attributes. *Food Microbiology*, 23: 423-429.
- Pierpoint, W.S. (2000). Why do plants make medicines. *Biochemistry*, 22: 37-40.
- Piironen, G.W.; Price, K.R.; Rhodes, M.J.C.; Williamsong, G. (1986). Tocopherols and tocotrienols in Finnish foods: vegetables, fruits and berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34: 742-746.
- Porra, R.J.; Thompson, W.A.; Kriedman, P.E. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls *a* and *b* extracted with four different solvents: verifications of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica e Biofisica Acta*, 975: 384-394.
- Premuzic, Z.; Bargiela, M.; Garcia, A.; Rendina, A.; Iorio, A. (1998). Calcium, iron, K, P and vitamin C content of organic hydroponic tomatoes. *HortScience*, 33: 255-257.
- Pressey, R. (1983). β -Galactosidases in ripening tomatoes. *Plant Physiology*, 71: 132-135.
- Prieur, C.; Rigaud, J.; Cheynier, V.; Moutounet, M. (1994). Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochemistry*, 36: 781-784.
- Prior, R.L.; Hoang, H.; Gu, L.; Wu, X.; Bacchiocca, M.; Howard, L.; Hampsch-Woodill, M.; Huang, D.; Ou, B.; Jacob, R. (2003). Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3273-3279.
- Proteggente, A.R.; Pannala, A.S.; Paganga, G.; van Buren, L.; Wagner, E.; Wiseman, S.; van De Put, F.; Dacombe, C.; Rice-Evans, C.A. (2002). The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Radicals Research*, 36: 217-233.
- Pyke, N.; Hopkirk, O.; Alspach, P.A.; Cooper, K.M. (1996). Variation in harvest and storage quality of fruit from different positions on kiwifruit vines. *New Zealand Journal Crop Hort. Sci.*, 24: 39-46.
- Ranney, T.G.; Bassuk, N.L.; Whitlow, T.H. (1991). Osmotic adjustment and solute constituents in leaves and roots of water-stressed cherry (*Prunus*) trees. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 116: 684-688.
- Ray, P.S.; Maulik, G.; Cordis, G.A.; Bertelli, A.E.; Bertelli, A.; Das, D.K. (1999). The red wine antioxidant resveratrol protects isolated rat heart from ischemia reperfusion injury. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 27: 160-169.
- Remorini, D.; Massai, R.; Loreti, F. (2005). Effetto del portainnesto e della gestione della chioma sulla qualità dei frutti di pesco. *Frutticoltura*, 12: 43-48.
- Remorini, D.; Tavarini, S.; Degl'Innocenti, E.; Guidi, L.; Dichio, B.; Massai, R. (2007). Influence of canopy position on kiwifruit quality. *Acta Horticulturae*, Proceedings VIth IS on Kiwifruit, 753.
- Remorini, D.; Tavarini, S.; Degl'Innocenti, E.; Loreti, F.; Massai, R.; Guidi, L. (2008). Effect of rootstocks and harvesting time on the nutritional quality of peel and flesh of peach fruits. *Food Chemistry*, 110: 361-367.
- Rice-Evans, C.; Halliwell, B.; Lunt, G.G. (1995). *Free radicals and oxidative stress: environment, drugs and food additives*. Portland Press, London.
- Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J.; Bolwell, P.G.; Bramley, P.M.; Pridham, J.B. (1995). The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. *Free Radicals Research*, 22: 375-383.
- Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J.; Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20: 933-956.

- Robards, K.; Prenzler, P.D.; Tucker, G.; Swatsitang, P.; Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66: 401-436.
- Robinson, T.L.; Seeley, E.J.; Barritt, B.H. (1983). Effect of light environment and spur age on "Delicious" apple fruit size and quality. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 108: 855-861.
- Rodriguez-Amaya, D.B. (1993). Nature and distribution of carotenoids in foods. In: Charalambous G. (ed), *Shelf life studies of foods and beverages. Chemical, biological, physical and nutritional aspects*. Amsterdam, Elsevier Science Publisher, pp. 547-589.
- Rom, C.R.; Ferre, D.C.; Cahoon, G.A. (1984). The influence of three training systems within hedgerows on light distribution, cropping, and efficiency of "Redhaven" and "Redskin" peaches. *The Ohio State University Research Circle*, 283: 49-53.
- Rommel, A.; Wrolstad, R.E.; Heatherbell, D.A. (1992). Blackberry juices and wine: processing and storage effects on anthocyanin composition, color and appearance. *Journal of Food Science*, 57: 385-391.
- Ruiz, D.; Egea, J.; Tomas-Barberan, F.A.; Gil, M.I. (2005). Carotenoids from new apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties and their relationship with flesh and skin colour. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 6368-6374.
- Sanchez-Moreno, C.; Jimenez-Escrig, A.; Saura-Calixto, F. (2000). Study of low-density lipoprotein oxidizability indexes to measure the antioxidant activity of dietary polyphenols. *Nutrition Research*, 20: 941-953.
- Sanoner, P.; Guyot, S.; Marnet, N.; Molle, D.; Drilleau, J.F. (1999). Polyphenol profiles of French cider apple varieties (*Malus domestica* sp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4847-4853.
- Sarkar, D.; Sharma, A.; Talukder, G. (1994). Chlorophyll and chlorophyllin as modifiers of genotoxic effects. *Mutation Research*, 318: 239-247.
- Saure, M.C. (1990). External control of anthocyanin formation in apple: a review. *Scientia Horticulturae*, 42: 181-218.
- Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30: 3875-3883.
- Scalzo, J.; Politi, A.; Pellegrini, N.; Mezzetti, B.; Battini, M. (2005). Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic content in fruit. *Nutrition*, 21: 207-213.
- Shapiro, T.A. (2001). Chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of broccoli sprouts: metabolism and excretion in humans. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 10: 501-508.
- Scholander, P.F.; Hammel, H.T.; Brandstreet, E.D.; Hemmingsen, E.A. (1965). Sap pressure in vascular plants. *Science*, 148: 339-346.
- Schrauzer, G.N. (2000). Anticarcinogenic effects of selenium. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 57: 1864-1873.
- Schuurman, A.G.; Goldbohm, R.A.; Brants, H.A.; van den Brandt, P.A. (2002). A prospective cohort study on intake of retinol, vitamins C and E, and carotenoids and prostate cancer risk. *Cancer Causes & Control*, 13: 573-582.
- Schwartz, G.G.; Eads, D.; Rao, A.; Cramer, S.D.; Willingham, M.C.; Chen, T.C.; Jamieson, D.P.; Wang, L.; Burnstein, K.L.; Holick, M.F.; Koumenis, C. (2004). Pancreatic cancer cell express 25-hydroxyvitamin D-1 α -hydroxylase and their proliferation is inhibited by the pro-hormone 25-hydroxyvitamin D3. *Carcinogenesis*, 25: 1015-1026.
- Schwartz, G.G.; Whitlatch, L.W.; Chen, T.C.; Lokeshwar, B.L.; Holick, M.F. (1998). Human prostate cells synthesize 1,25-dihydroxyvitamin D3 from 25-hydroxyvitamin D3. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 7: 391-395.
- Selenium Information Sheet, <http://www.selenium.arizona.edu/INFOse.htm>
- Shahidi, F.; Naczk, M. (1995). *Food Phenolics: an overview*. In Shahidi F., Naczk M., (eds.), *Food phenolics: sources, chemistry, effects, applications*. Lancaster, PA: Technomic Publishing Company Inc, pp. 1-5.
- Shi, J.; Le Maguer, M. (2000). Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. *Critical Reviews in Biotechnology*, 20: 293-334.
- Shinohara, Y.; Suzuki, Y.; Shibuya, M. (1982). Effects of cultivation method, growing season and cultivar on the ascorbic acid content of tomato fruits. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 51: 338-343.

- Shivashankara, K.S.; Isobe, S.; Al-Haq, M.I.; Takenaka, M.; Shina, T. (2004). Fruit antioxidant activity, ascorbic acid, total phenol, quercetin and carotene of Irwin mango fruits stored at low-temperature after high electric field treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 1281-1286.
- Slaughter, D.C.; Crisosto, C.H. (1998). Non-destructive internal quality assessment of kiwifruit using near-infrared spectroscopy. *Seminar in Food Analysis*, 3: 131-140.
- Smith, C.J.S., Watson, C.F., Ray, J., Bird, C.R., Morris, P.C., Schuch, W.; Grierson, D. (1988). Antisense RNA inhibition of polygalacturonase gene expression in transgenic tomatoes. *Nature*, 334: 724-726.
- Smith, J.C.; Yokohama, W.H.; German, G.B. (1998). Butyric acid from diet: actions at the levels of gene expression. *Critical Review of Food Science*, 38: 259-267.
- Soda, I.; Hasegawa, T.; Suzuki, T.; Ogura, N. (1986). Changes of polyuronides in kiwifruit during ripening. *Agricultural and Biological Chemistry*, 50: 3191-3192.
- Soldatini, G.F. (1996). Gli antiossidanti vegetali. In Peri, C. (ed.), *Ruolo delle sostanze antiossidanti della dieta nel mantenimento della salute*. Centro Studi sull'Alimentazione Gino Alfonso Spada, Milano, pp. 67-105.
- Soldatini, G.F. (2000). Biodiversità fitochimica e proprietà salutistiche degli alimenti. Valorizzazione delle proprietà salutistiche degli alimenti di origine vegetale. Ruolo della biodiversità e della biotecnologia. I Georgofili Quaderni, II.
- Soleas, G.J.; Diamandis, E.P.; Goldberg, D.M. (1997). Resveratrol: a molecule whose time has come and gone? *Clinical Chemistry*, 30: 91-113.
- Somers, G.F.; Kelly, W.C.; Hamner, K.C. (1951). Influence of nitrate supply upon the ascorbic content of tomatoes. *American Journal of Botany*, 38: 472-475.
- Souquet, J.M.; Cheyner, V.; Brossaud, F.; Moutounet, M. (1996). Polymeric proanthocyanidins from grape skins. *Phytochemistry*, 43: 509-512.
- Spalding, E.P.; Cosgrove, D.J. (1989). Large plasma-membrane depolarization precedes rapid blue-light-induced growth inhibition in cucumber. *Planta*, 178: 407-410.
- Spanos, G.A.; Wrolstad, R.E. (1990). Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38: 1565-1571.
- Stampfer, M.J.; Hennekens, C.H.; Manson, J.E.; Colditz, G.A.; Rosner, B.; Willett, W.C. (1993). Vitamin consumption and the risk of coronary disease in women. *New England Journal of Medicine*, 328: 1444-1449.
- Stec, M.G.H.; Hodgson, J.A.; MacRae, E.A.; Triggs, C.M. (1989). Role of fruit firmness in the sensory evaluation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*, cv. "Hayward"). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 47: 417-433.
- Steinmetz, K.A.; Potter, J.D. (1996). Vegetables, fruit and cancer: a review. *Journal of the American Dietetic Association*, 96: 1027-1039.
- Stewart, A.J.; Chapman, W.; Jenkins, G.I.; Graham, I.; Martin, T.; Crozier, A. (2001). The effect on N and phosphorous deficiency on flavonol accumulation in plant tissue. *Plant, Cell & Environment*, 24: 1189-1197.
- Strack, D. (1997). Phenolic metabolism. In P.M. Dey e J.B. Harborne (eds), *Plant Biochemistry*. Academic Press, London, pp. 387-416.
- Strack, D.; Wray, V. (1992). Anthocyanins. In: *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986*. J.B. Harborne (ed), Chapman & Hall, London, pp. 1-22.
- Stralsjo, M.; Witthoft, C.M.; Sjöholm, I.M.; Jägerstad, M.I. (2003). Folate content in strawberries (*Fragaria x ananassa*): effects of cultivar, ripeness, year of harvest, storage and commercial processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 128-133.
- Sun, J.; Chu, Y.F.; Wu, X.; Liu, R.H. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 7449-7254.
- Szeto, Y.T.; Tomlinson, B.; Benzie, I.F.F. (2002). Total antioxidant capacity and ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables: implications for dietary planning and food preservation. *British Journal of Nutrition*, 87: 55-59.
- Takahama, U.; Oniki, T. (1997). A peroxidase/phenolics/ascorbate system can scavenge hydrogen peroxide in plant cells. *Physiologia Plantarum*, 101: 845-852.
- Takeda, K.; Tochika, Y.; Fukazawa, R.; Mori, T. (1994). Flavonoidi as UV-protectant. *Acta Horticulturae*, 381: 248.

- Talalay, P.; Fahey, J.W. (2001). Phytochemicals from cruciferous plants protect against cancer by modulating carcinogen metabolism. *The Journal of Nutrition*, 131: 3027S-3033S.
- Talalay, P.; Zhang, Y. (1996). Chemioprotection against cancer by isothiocyanates and glucosinolates. *Biochemical Society Transaction*, 24: 806-812.
- Tangpricha, V.; Flanagan, J.N.; Whitlatch, L.W.; Tseng, C.C.; Chen, T.C.; Holt, P.R.; Lipkin, M.S.; Holick, M.F. (2001). 25-hydroxyvitamin D-1 α -hydroxylase in normal and malignant colon tissue. *The Lancet*, 357: 1673-1674.
- Tavarini, S.; Degl'Innocenti, E.; Pardossi, A.; Guidi, L. (2007). Biochemical aspects in two minimally processed lettuces upon storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 42: 214-219.
- Tavarini, S.; Degl'Innocenti, E.; Remorini, D.; Massai, R.; Guidi, L. (2008a). Preliminary characterisation of peach cultivars for their antioxidant capacity. *International Journal of Food Science and Technology*, 43: 810-815.
- Tavarini, S.; Degl'Innocenti, E.; Remorini, D.; Massai, R.; Guidi, L. (2008b). Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit. *Food Chemistry*, 107: 282-288.
- Thaipong, K.; Boonprakob, U.; Crosby, K.; Cisneros-Zevallos, L.; Byrne, D.H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruits extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 669-675.
- Thomas, R.L.; Jen, J.J. (1975). Phytocrome-mediated carotenoids biosynthesis in ripening tomatoes. *Acta Horticulturae*, 574: 129-137.
- Tomas-Barberan, F.A.; Gil, M.I.; Cremin, P.; Waterhouse, A.L.; Hess-Pierce, B.; Kader, A.A. (2001). HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 4748-4760.
- Tomas-Barberan, F.A.; Robins, F.J. (1997). *Phytochemistry of Fruits and Vegetables*. New York, Oxford University Press, pp. 1-30.
- Toor, R.K.; Savage, G.P. (2005). Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. *Food Research International*, 38: 487-494.
- Tsipouridis, C.; Thomidis, T. (2005). Effect of 14 peach rootstocks on the yield, fruit quality, mortality, girth expansion and resistance to frost damages of May Crest peach variety and their susceptibility on *Phytophthora citrophthora*. *Scientia Horticulturae*, 103: 421-428.
- Turner, N.C. (1981). Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. *Plant Soil*, 58: 339-366.
- Ubi, B.E. (2004). External stimulation of anthocyanin biosynthesis in apple fruit. *Food Agriculture and Environment*, 2: 65-70.
- US Department of Agriculture, Agricultural Research Service (2002). *USDA-Iowa State University Database on the Isoflavone Content of Foods*. Nutrient Data Laboratory Web Site (<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/isoflav/isoflav.html>).
- Velioglu, Y.S.; Mazza, G.; Gao, L.; Oomah, B.D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4113-4117.
- Vieth, R.; Kimball, S.; Hu, A.; Walfish, P.G. (2004). Randomized comparison of the effects of the vitamin D₃ adequate intake versus 100 mcg (4000 IU) per day on biochemical responses and the wellbeing of patients. *Nutritional Journal*, 3:8.
- Wang, H.; Cao, G.; Prior, R.L. (1996). Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 4113-4117.
- Wang, S.W.; Lin, H.-S. (2000). Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 140-146.
- Wang, Z.; Stutte, G. (1992). The role of carbohydrates in active osmotic adjustment in apple under water stress. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 117: 816-823.
- Wargovich, M.J. (2000). Anticancer properties of fruits and vegetables. *Horticulture Science*, 35: 573-575.
- WCRF/AICR (1997). Food, nutrition and prevention of cancer: a global perspective. *World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research*.

- Weinges, K.; Freudenberg, K. (1965). Condensed proanthocyanidins from cranberries and cola nuts. *Chemistry Communication*, 2: 220-222.
- Weinges, K.; Goritz, K.; Nader, F. (1968). Konfigurationsbestimmung von $C_{30}H_{26}O_{12}$ Procyaniden und strukturaufklärung neuen procyanidin. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 715: 164-171.
- Wills, R.B.H.; Wimalasiri, P.; Greenfield, H. (1984). Dehydroascorbic acid levels in fresh fruits and vegetables in relation to total vitamin C activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32: 836-838.
- Woese, K.; Lange, D.; Boess, C.; Bogl, K.W. (1997). A comparison of organically and conventionally grown foods – results of a review of the relevant literature. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74: 281-293.
- Wolf, K.; Wu, X.Z.; Liu, R.H. (2003). Antioxidant activity of apples peel. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 609-914.
- Wu, K.; Helzlsouer, K.J.; Comstock, G.W.; Hoffman, S.C.; Nadeau, M.R.; Selhub, J. (1999). A prospective study on folate, B12, and pyridoxal 5-phosphate (B6) and breast cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 8: 209-217.
- Wyllie, A.H. (1997). Apoptosis: an overview. *The British Medical Bulletin*, 53: 451-465.
- Zhang, B.; Archbold, D.D. (1993). Solute accumulation in leaves of a *Fragaria chiloensis* and *F. virginiana* selection responds to water deficit stress. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 118: 280-285.
- Zhang, S.M.; Willett, W.C.; Selhub, J.; Hunter, D.J.; Giovannucci, E.L.; Holmes, M.D.; Colditz, G.A.; Hankinson, S.E. (2003). Plasma folate, vitamin B6, vitamin B12, homocysteine and risk of breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 95: 373-380.
- Ziegler, R.G. (1991). Vegetables, fruits and carotenoids and the risk of cancer. *American Journal of Clinical Nutrition*, 53: 251-259.

Appendice

***Actinidia deliciosa (A.Chev.) C.F. Liang & A.R. Ferguson,
cv. Hayward***



Il kiwi è una specie nativa delle province di Hupeh, Szechuan, Kiangsi e Fukien, nella valle di Yangtze nel nord della Cina (latitudine 31° N) e della provincia di Zhejiang, sulla costa più ad est della Cina. In queste province era nota con il nome di yang-tao). Il nome kiwi è stato dato alla pianta in Nuova Zelanda (dal nome dell'uccello che rappresenta il simbolo di questa nazione); è proprio in Nuova Zelanda che ebbe inizio la coltivazione intensiva dei kiwi che poi si è diffusa in molte altre nazioni. La varietà Hayward rappresenta il 95% delle piante di kiwi coltivate ed è stata selezionata in Nuova Zelanda nel 1920. Il kiwi coltivato in Italia è reperibile sul mercato da novembre a giugno, mentre negli altri mesi dell'anno si trovano frutti provenienti dall'estero. Attualmente l'Italia è il maggior produttore mondiale di kiwi (300.000 tonnellate su 800.000 globali), alla quale seguono Nuova Zelanda, Cile, USA, Giappone e Francia. Le regioni italiane dove è maggiormente diffusa questa coltura sono Lazio, Piemonte, Veneto e, in misura minore, Campania e Calabria.

IL kiwi appartiene alla Famiglia delle Actinidiaceae, genere Actinidia, è una pianta rampicante e può raggiungere i 10 m di altezza. L'apparato radicale è superficiale, il fusto presenta tralci anche molto

lunghi che portano gemme miste e a legno. Le foglie sono semplici, decidue, cuoriformi con picciolo molto lungo. È una specie dioica con cultivar pistillifere e staminifere; presenta fiori singoli o raggruppati in 2-3 (infiorescenze triple possono richiedere un diradamento dei fiori in fase di allegagione), che sono presenti a partire da maggio; il frutto è una bacca ricoperta da peluria, la polpa è di un verde caratteristico, punteggiata di minuscoli semi, violacei o neri, disposti intorno a un cuore biancastro (columella). L'impollinazione è entomofila anche se i fiori non sono molto attrattivi per le api e per ovviare a ciò si aumenta nella coltivazione il numero delle arnie; in misura minore la dispersione del seme può avvenire anche per via anemofila. Per quel che riguarda i limiti pedoclimatici, l'actinidia teme i danni da freddo ed i ristagni idrici per cui si rende indispensabile il drenaggio; inoltre può presentare problemi con terreni ad elevato calcare attivo, $pH > 7,6$ ed in presenza di forte ventosità (impiego di frangiventi).

Le cultivar impiegate sono: Hayward, Abbot, Allison, Bruno, Katuscia, Top star, Tumuri, Matua, Autari, M3. La propagazione dell'actinidia avviene per seme per ottenere portinnesti e per il miglioramento genetico; al Centro-Nord si utilizza la talea in modo da poter ricostruire la pianta dai ricacci quando si verificano danni da freddo, mentre al Centro-Sud si usano piante innestate in vivaio o a dimora. La micropropagazione è poco impiegata dato che le piante mostrano ritardo nell'entrata in produzione. I principali portinnesti sono Bruno, Hayward e D1 clonale; il primo è quello più utilizzato in Italia.

Le lavorazioni devono evitare la compattazione del terreno ed è preferibile un inerbimento nell'interfilare. È una specie che richiede un elevato fabbisogno idrico, $10000\text{m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ anno}^{-1}$, con distribuzione a goccia o con microspruzzatori sottochioma. La concimazione prevede un fabbisogno medio annuo di 150, 70 e 140 unità di N, P_2O_5 e K_2O rispettivamente, alle quali si aggiunge la sostanza organica ogni 2-3 anni in inverno. Circa le forme di allevamento le più diffuse sono il tendone con sesti di 4,5x5 m, e la pergoletta con sesto di 4,5x4,5 m. Nuove forme sono anche il Tatura trellis ed il fusetto. Con la potatura di produzione si eliminano i tralci che hanno già fruttificato, mentre la potatura verde è volta

ad ottimizzare l'illuminazione all'interno della chioma e ad eliminare i succhioni, i rami mal posti e per eseguire il diradamento. La raccolta avviene, solitamente, a fine ottobre ed inizio novembre e gli indici impiegati per individuare la maturità alla raccolta sono il contenuto in solidi solubili e la durezza della polpa. Il contenuto minimo di solidi solubili alla raccolta deve essere pari a 6,5% Frutti raccolti tardivamente mantengono meglio una buona consistenza della polpa, rispetto a frutti raccolti anticipatamente. Tendenzialmente, però, i produttori sono portati ad effettuare una raccolta precoce per evitare le grandinate. È il frutto a più elevato contenuto di vitamina C, è impiegato nel consumo fresco e nell'industria dolciaria. La produzione italiana complessiva è pari a 310.000 t delle quali il 31% proviene dal Lazio. Le produzioni medie si aggirano sui 30-50 kg/pianta, pari a 200-250 q/ha.

Tra le fisiopatie che possono interessare il kiwi vi sono i danni da gelo e da grandine, da vento e la clorosi ferrica; si possono presentare delle batteriosi quali tumori radicali e possono verificarsi marciumi radicali e muffa grigia. Tra gli insetti, i più pericolosi per questa coltura sono la Metcalfa pruinosa, la mosca della frutta e gli acari. In conservazione sono possibili infezioni da Botritis.

Recenti ricerche hanno dimostrato come il kiwi possieda importanti caratteristiche nutrizionali che sono estremamente diverse da quelle di molti altri frutti. È possibile elencare i principali fitochimici presenti nel frutto di kiwi: vitamina C (livelli circa 2 volte maggiori di quelli delle arance), potassio (450 mg di potassio per porzione del kiwi contro i 370 della banana), vitamina E, acido folico, luteina, fibre e minerali (calcio, magnesio, ferro e rame). È possibile notare, quindi, come il kiwi sia una buona sorgente di sostanze antiossidanti. Numerose ricerche sottolineano, in particolare, come il kiwi sia un frutto particolarmente ricco in vitamina C (Nisihyama et al., 2004) e tale contenuto varia tra 25 e 155 mg/100 g di peso fresco (Kabaluk et al., 1997). Possiede anche una gran varietà di altri composti fitochimici come il β -carotene, la luteina, le antocianine e l'acido ellagico (Nishiyama, 2007). La quantità di questi composti bioattivi è fortemente influenzata da numerosi fattori (Kader, 1988); tra questi, lo stadio di maturazione è uno dei più importanti, ma

anche le condizioni di conservazione possono influenzare le caratteristiche organolettiche e nutrizionali del frutto (Ayala-Zavala et al., 2004; Lee e Kader, 2000; Tavarini et al., 2008b).

***Prunus persica* L. Batsch**



Il pesco è probabilmente originario della Cina (secondo alcuni del Medio Oriente - Persia), dove lo si può ancora trovare allo stato selvatico. L'introduzione del pesco in Europa viene attribuita da alcuni ad Alessandro Magno a seguito delle sue spedizioni contro i Persiani, secondo altri i Greci lo avrebbero introdotto dall'Egitto. Viene coltivato nelle zone con clima temperato-mite. A livello mondiale i maggiori produttori sono gli Stati Uniti, seguiti dall'Italia, la Spagna, la Grecia, la Cina, la Francia e l'Argentina. In Italia le regioni maggiori produttrici sono l'Emilia-Romagna (circa 1/3 della produzione), la Campania (1/4), il Veneto ed il Lazio. I primi pescheti specializzati in Italia risalgono alla fine dell'800 e sono stati realizzati in provincia di Ravenna. Il pesco appartiene alla famiglia delle Rosaceae, tribù delle Amigdaleae, sezione delle Prunoidee, genere Persica, specie vulgaris. Secondo altri studiosi apparterebbe al genere Prunus (specie persica), come l'albicocco, il ciliegio, il mandorlo e il susino. Il pesco comune è un albero di modeste dimensioni, alto fino a circa 8 m, con apparato radicale molto superficiale, corteccia bruno-cenerina e rami radi, divaricati, rosso-bruni. Le foglie sono lanceolate,

strette, seghettate. I fiori, che sbocciano prima della comparsa delle foglie, sono ermafroditi, ascellari, pentameri, colorati in rosa più o meno intenso. I petali sono cinque, il calice è gamosepalo, con cinque sepali; gli stami sono numerosi, fino a 20-30. Il pesco è, in genere, una specie autoincompatibile. Gli ovuli, generalmente due, non giungono tutti a maturazione, ma solo uno di essi viene fecondato e giunge a maturità. Il nocciolo del pesco contiene perciò un solo seme (o mandorla) solcato profondamente, che è di sapore amaro per l'elevato contenuto di amigdalina, un glucoside cianogenetico caratteristico di alcune drupacee. I frutti sono drupe carnose, tondeggianti, solcate longitudinalmente da un lato, coperte da una buccia tomentosa (pesche propriamente dette) o glabra (pesche-noci o nettarine) di vario colore. La polpa è succulenta, di sapore zuccherino più o meno acidulo, di color bianco, giallo o verdastro. La pesca ha una tipica consistenza polposa e succosa che è dovuta all'elevato contenuto in acqua ed alla presenza di pectina. La maturazione dei frutti avviene tra la prima e la seconda decade di maggio nelle zone meridionali e si stende fino alla fine di settembre per le cultivar più tardive. In linea di massima le condizioni climatiche italiane e degli altri Paesi mediterranei sono ideali per la coltivazione del pesco che può sopportare limiti assai ampi; esso tollera infatti temperature minime invernali di -15 - 18°C e può facilmente essere coltivate anche in ambienti subtropicali dove il riposo invernale è alquanto limitato.

La scelta del portinnesto dipende da numerosi fattori: il tipo di terreno, le colture che hanno preceduto, la possibilità o meno di irrigare, la reperibilità sul mercato vivaistico, la varietà, etc. Numerosi sono i possibili portinnesti utilizzabili anche se, nella pratica, quelli più diffusi sono pochi. Si ricordano: Franco Slavo, Selezioni del franco, Serie P.S., GF 677, Sirio, Hansen, Barrier 1, Susino, M.r.S 2/5, Penta e Tetra. Le cultivar di pesco, in relazione alla specie di appartenenza e al tipo di prodotto fornito, vengono distinte in cultivar da consumo fresco, nettarine e percoche. Nell'ambito delle specie fruttifere maggiormente diffuse nel nostro Paese, il pesco da sempre registra la più ampia "creatività" intesa come numero di nuove cultivar che annualmente vengono poste all'attenzione dei frutticoltori. Tale situazione pone problematiche sia al mondo della ricerca,

per le difficoltà che si incontrano nel tentativo di valutare preventivamente le "novità varietali" prima che siano rese note sui cataloghi vivaistici; sia a quello produttivo, per il disorientamento che provoca tra i frutticoltori al momento della scelta delle cultivar che dovrebbero rispondere alle esigenze programmatiche dei nuovi impianti da realizzare. Questo intenso dinamismo ha modificato sostanzialmente il "vecchio assortimento varietale", cosa non avvenuta per molte altre specie fruttifere. Soprattutto nell'ultimo decennio, si è assistito ad importanti mutamenti dei caratteri pomologici e commerciali delle nuove cultivar di pesco che interessano sostanzialmente:

- il colore dell'epidermide, che si è evoluto dal rosso più o meno soffuso e spesso striato su fondo difficilmente privo di verde, seppure chiaro, ad un rosso molto intenso ed estremamente unito, che compare spesso assai prima dell'epoca di raccolta commerciale dei frutti;*
- il sapore della polpa, che tende ad "appiattirsi" rispetto a quello tipico delle "vecchie cultivar", tanto a polpa gialla (generalmente più acide), quanto a polpa bianca (quasi sempre più sapide, perché maggiormente ricche di zuccheri);*
- la consistenza del frutto, sia sull'albero che in fase di post-raccolta, che nelle "nuove cultivar" si presenta elevata o molto elevata, rispetto a quella media o medio-scarso delle "vecchie cultivar".*

Queste modificazioni hanno interessato le cultivar per il consumo fresco, tanto di pesco che di nettarine, ma non quelle per l'industria, più legate a specifiche esigenze tecnologiche dei mezzi meccanici e chimici utilizzati per la trasformazione dei frutti. Le cultivar da consumo fresco vengono distinte in:

- cultivar a polpa gialla: Earrly Maycrest, Queencrest, Maycrest, Springcrest, Spring Lady, Springbelle, Royal Glory, Flavorcrest, Redhaven, Rich Lady, Lizbeth, Red Moon, Red Topo, Summer Rich, Maria Marta, Glohaven, Pontina, Romestar, Elegant Lady, Suncrest, Red Coast, Symphonie, Franca, Sibelle, Cresthaven, Roberta Barolo, Bolero, Fayette, Promesse, Sunprice, Aurelia,*

Early O'Henry, Padana, Calred, O'Henry, Guglielmina, Parade, Flaminia, Fairtime;

- *cultivar a polpa bianca: Primerose, Springtime, Alexandra, Felicia, Anita, Iris Rosso, Maria Grazia, Daisy, Alba, Bea, Redhaven Bianca, Maria Bianca, Fidelia, White Lady, Rosa del West, Maria Rosa, Rossa San Carlo, Maria Angela, Tendresse, Toro, Dolores, K2, Regina Bianca, Duchessa d'Este, Maria Delizia, Tardivo Giuliani, Michelini, Regina di Londa.*

Le nettarine possono essere distinte in:

- *cultivar a polpa gialla: May Glo, Lavinia, Armking, Rita Star, Maria Emilia, Supercrimson, May Diamond, Red Delight, Weinberger, Gioia, Early Sungrand, Big Top, Spring Red, Firebrite, Maria Laura, Independence, Flavor Gold, Pegaso, Maria Carla, Red Diamond, Antares, Summer Grand, Flavortop, Stark Redgold, Nectaross, Maria Aurelia, Venus, Maria Dolce, Orion, Sweet Red, Caldesi 84, Royal Giant, Sirio, Scarlet Red, Fairlane, Tastyfree, Caldesi 85, California;*
- *cultivar a polpa bianca: Silver King, Caldesi 2000, Caldesi 2010, Silver Star, Silver Moon, Caldesi 2020.*

Tra le pesche da industria (o percoche) si ricordano: Federica, Tirrenia, Loadel, Villa Giulia, Romea, Villa Adriana, Tebana, Adriatica, Lamone, Villa Ada, Babygold 6, Villa Doria, Carson, Vivian, Andross, Jungerman, Babygold 9, Merriam.

Il pescheto può essere eseguito con astoni innestati da vivaio, piante innestate a gemma dormiente (1-2 gemme), con portinnesti di un anno da innestare in campo e anche con piante in vaso innestate e in vegetazione. I sistemi di allevamento del pesco si possono classificare in: forme in volume, forme a parete verticale e a pareti inclinate. Tutte le forme si possono ottenere più o meno rapidamente a seconda che si privilegi una potatura che si preoccupi soprattutto della forma voluta, oppure la precoce entrata in produzione, limitando quanto più possibile interventi di taglio nei primi anni arrivando alla forma desiderata più tardi. La moderna frutticoltura tende sempre più al secondo metodo per ammortizzare i costi nel minor tempo possibile. In generale, si può

affermare che l'attuale tecnica tende a contenere lo sviluppo delle piante al fine di ridurre i tempi di lavoro. Le forme di allevamento utilizzate nelle diverse realtà persicole sono: vaso, vasetto ritardato, vaso veronese, Palbidone, Palmetta, Pal-spindel, Fusetto, Ipsilon trasversale. La scelta del sesto d'impianto deve tenere conto di molti elementi: il portinnesto, la fertilità del terreno, la forma di allevamento, la disponibilità di acqua, la varietà, etc. La potatura di produzione ha lo scopo di regolare la produzione e migliorare la qualità dei frutti. Nel pesco inizia molto presto: già al secondo anno compaiono diversi frutti e al quarto o al quinto anno si passa alla piena produzione; l'intensità del diradamento dei rami misti deve anch'essa essere man mano maggiore fino a raggiungere il 50-70 % nella fase adulta. Al raggiungimento della piena fruttificazione, si deve porre la massima attenzione per mantenere il giusto equilibrio fra vegetazione e produzione, distribuendo quest'ultima sulle branche primarie e secondarie in modo razionale mediante l'asportazione dei rami che hanno prodotto e tagli di ritorno sopra uno o più rami misti di giusto vigore, eliminando i rami troppo vigorosi o male inseriti così da mantenere i rami a frutto il più possibile vicino alla struttura scheletrica della pianta. Le varietà di pesche da industria (percoche), in generale, producono meglio sui dardi (mazzetti di maggio) e sui brindilli inseriti sui rami che hanno già fruttificato (grondacci), pertanto questi non vanno asportati completamente ma accorciati o diradati in quanto per queste varietà l'industria richiede frutti di pezzatura uniforme e non grossa. Durante la piena fruttificazione è necessario eseguire uno o due interventi in verde per asportare i succhioni, diradare o piegare i germogli onde favorire una buona lignificazione e mantenere rivestita la parte basale della chioma. Il diradamento dei frutti è la più importante operazione per ottenere frutti di pezzatura commerciale a complemento della potatura sia di allevamento che di produzione. Va eseguita alla quarta-sesta settimana (25-35 giorni) dopo la piena fioritura: iniziata precocemente assicura una miglior pezzatura dei frutti, un anticipo della maturazione, miglior colore e maggiore differenziazione di gemme per l'anno successivo ma, nelle varietà soggette a spaccatura del nocciolo, ne accentua il difetto. Nelle varietà molto precoci e sotto tunnel di forzatura, può essere utile eseguire

il diradamento in due volte, una prima volta energica e una seconda di rifinitura. La corretta nutrizione è un elemento fondamentale per assicurare elevati livelli produttivi e qualitativi del pescheto; essa deve tenere conto di tutte le tecniche colturali applicate e delle reali condizioni del terreno opportunamente analizzato. L'estrema diversità di tipi di terreno e di ambienti in cui il pesco viene coltivato rende impossibile una generalizzazione della concimazione; questa deve sempre essere fatta sulla base di informazioni relative alle caratteristiche fisico-chimiche risultanti dalle analisi del terreno. Durante la preparazione del terreno è sempre consigliabile un'abbondante concimazione organica sia generalizzata che localizzata sulla fila o nella buca; nei terreni sciolti, grossolani, è opportuno frazionare gli apporti organici distribuendone parte prima dell'impianto e parte alla fine della prima vegetazione, calcolando che per ogni 100 quintali di letame si apportano circa 50 unità di azoto, 30 unità di fosforo, 40 unità di potassio, microelementi, e si migliora la struttura del terreno nonché l'assorbimento degli elementi nutritivi. La concimazione minerale deve tenere conto delle dotazioni di fosforo e potassio rilevate. Con le nuove tecniche, il periodo di allevamento è ridotto quasi ad una sola vegetazione, pertanto, fin dal primo anno, si deve intervenire con la concimazione in funzione della produzione; questa dovrebbe essere guidata dalla diagnostica fogliare stante la diversità di condizioni che caratterizza le aree peschicole e gli stessi frutteti. L'inerbimento favorisce l'assorbimento sia del potassio che del fosforo. I microelementi vanno considerati con attenzione ricorrendo alla diagnostica fogliare per valutarne la necessità di apporti durante la fase produttiva. I fabbisogni idrici del pesco variano a seconda di diversi fattori: terreno, piovosità, portinnesto, varietà, gestione del suolo, etc. E' stato calcolato che un ettaro di pescheto in produzione consuma da 2500 a 4000 m³ d'acqua pari a 250-400 mm di pioggia; considerando però che le piante utilizzano solo una parte dell'acqua che arriva loro per le precipitazioni o per l'irrigazione, l'apporto deve essere sensibilmente superiore. La distribuzione del totale volume di adacquamento deve differenziarsi in funzione delle diverse situazioni: più frequente nei terreni sciolti che in quelli compatti; più concentrata in primavera-inizio estate per

le varietà precoci; abbondante nella fase di fioritura, scarsa fino all'indurimento del nocciolo, più forte durante l'accrescimento del frutto, ancora limitata dopo la raccolta seppur continua, per favorire la differenziazione delle gemme e l'accumulo di sostanze di riserva. L'inerbimento anche parziale del pescheto comporta la necessità di abbondare con le concimazioni e l'irrigazione a causa della competizione nutrizionale ed idrica che può compromettere l'attività vegetativa e la quantità dei frutti. L'inerbimento migliora le caratteristiche di porosità e permeabilità del terreno, inoltre incrementa il contenuto di sostanza organica e l'attività biologica del terreno. Nei pescheti condotti in coltura asciutta non è possibile l'inerbimento ed è necessario ricorrere alla lavorazione del suolo con la precauzione di eseguirla in modo molto superficiale, evitando l'esecuzione in periodi troppo umidi per non compattare e creare problemi di asfissia alle radici del pescheto.

L'epoca di raccolta rappresenta un momento fondamentale della filiera produttiva, perché caratterizza e condiziona la qualità globale e la serbevolezza del prodotto. La definizione dell'epoca di raccolta, tenendo conto della scalarità di maturazione dei frutti, delle forti variabilità tra le diverse cultivar e della diversa reazione ai fattori pedoclimatici, è alquanto problematica, tuttavia alcuni indici si sono dimostrati di facile applicazione e di sufficiente rispondenza fisiologica. Si può ricorrere alla determinazione della durezza della polpa, ma è possibile ricorrere anche all'uso di altri parametri, tra cui il controllo della colorazione dell'epidermide, in particolare modo del colore di fondo. A questi si può aggiungere il residuo secco rifrattometrico, l'acidità titolabile ed il loro rapporto. Per le percoche, il colore della polpa e quello di fondo della buccia rappresentano indici di primaria importanza. Ai fini della conservazione prolungata, il prodotto dovrebbe essere raccolto ad una durezza compresa fra 5 e 6 kg (puntale del penetrometro di 8 mm). Per la commercializzazione immediata, la durezza va rapportata alle esigenze della distribuzione e dello standard di qualità e comunque non dovrà essere superiori a tali valori. La raccolta viene effettuata generalmente in più volte; sono escluse le percoche qualora si pratichi la raccolta meccanica. Questa operazione può essere fatta ricorrendo ai sistemi

tradizionali, cioè alle scale oppure ad appositi carri raccolta opportunamente attrezzati per l'utilizzazione dei pallets.

La produttività degli impianti peschicoli può variare notevolmente: risulta minore per le cultivar precoci mentre tende ad aumentare per quelle tardive; nelle cultivar più produttive può giungere fino a 400 q ha⁻¹. Dalle aziende, le pesche passano, normalmente, ai magazzini di lavorazione dove si provvede alla cernita, alla spazzolatura, e al confezionamento in imballaggi standardizzati e per le varietà intermedie o tardive alla conservazione. La pesca oltre che essere consumata allo stato fresco in numerose preparazioni è largamente utilizzata nella produzione di marmellate, succhi e pesche sciroppate, pesche essiccate, mostarda e canditi, frutti al brandy, alcool, etc. In Italia l'industria conserviera di pesche occupa un posto di primo piano.

Pubblicazioni

DOPO CONSERVAZIONE IN CELLA FRIGORIFERA E A TEMPERATURA AMBIENTE

Valore salutistico dei frutti di actinidia in funzione dell'epoca di raccolta

L'epoca di raccolta incide in modo notevole sulle sostanze importanti per la prevenzione e la cura di numerose patologie umane. In essa viene ritardata la capacità antiossidante rimane inalterata, ma il contenuto in vitamina C diminuisce significativamente. Un ritardo eccessivo può determinare, pertanto, un minore valore salutistico del kiwi dopo lunghi periodi di conservazione

S. Tavarini, D. Remorini, E. Degl'Innocenti, R. Massai, L. Guidi

Negli ultimi anni il cibo ha assunto lo status di «cibo funzionale», cioè in grado di conferire, oltre alle componenti nutritive di base, ulteriori benefici fisiologici e biochimici, quali la prevenzione e/o cura di una vasta gamma di patologie come il cancro, le cardiopatie e le malattie degenerative connesse ai processi di senescenza (Kaur e Kapoor, 2001). In particolare, i prodotti ortofrutticoli rappresentano alimenti eccellenti dal punto di vista salutistico: al basso contenuto in calorie uniscono un'elevata presenza di sostanze antiossidanti e prodotti fitochimici. Per definizione questi ultimi sono sostanze presenti nelle piante che possono essere assunte giornalmente, in grado di modulare il metabolismo umano e di prevenire importanti patologie (Ferrari e Torres, 2003).

La presenza di fitochimici in frutta e ortaggi ha richiamato l'attenzione del mondo della ricerca, proprio in virtù del ruolo che essi svolgono nei confronti di malattie indotte dallo stress ossidativo. Quest'ultimo è responsabile del rilascio, negli organismi aerobi, dei radicali liberi dell'ossigeno, le cosiddette Ros (Reactive oxygen substances). Diversi studi hanno dimostrato che i radicali liberi presenti nell'organismo umano causano un danno ossidativo a molecole quali lipidi, proteine e acidi nucleici (Garcia-Alonso *et al.*, 2004). Gli organismi aerobi vivono, infatti, nei confronti dell'ossigeno una condizione particolare, definita «paradosso dell'ossigeno», nel senso che devono necessariamente utilizzarlo per la respirazione, ma al tempo stesso devono attrezzarsi per evitare gli effetti dannosi dell'ossigeno e di tutti i radicali che il metabolismo aerobio produce (Rice-Evans *et al.*, 1995).

L'induzione dello stress ossidativo

ha messo in evidenza il ruolo chiave di diverse sostanze organiche note con il nome di antiossidanti, in grado di prevenire i danni cellulari connessi all'aumento dei radicali liberi. Gli antiossidanti possono essere definiti come i guardiani delle cellule poiché riescono a neutralizzare i radicali liberi prima che possano indurre danni all'organismo; inoltre gli antiossidanti giocano un ruolo importante nel preservare il cibo ritardando il deterioramento, l'irrancidimento e la perdita di colore in seguito all'ossidazione (Kaur e Kapoor, 2001).

Fra le diverse sostanze naturali ad azione antiossidante ci sono le vitamine, ma anche una vasta gamma di molecole che tipicamente derivano dal metabolismo secondario delle piante, come, ad esempio, i composti fenolici (acidi fenolici e flavonoidi) e i carotenoidi (β -carotene, licopene, luteina,

zeaxantina). A questi si aggiungono composti azotati (alcaloidi, derivati della clorofilla, aminoacidi, ammine), ma anche elementi minerali (calcio, selenio) e fibre vegetali.

Nell'ampia gamma di prodotti ortofrutticoli che il consumatore ha a disposizione, il kiwi rappresenta certamente uno dei più interessanti. Si tratta, infatti, di un frutto mediamente calorico che contiene, invece, elevate quantità di vitamina C (acido L-ascorbico e L-deidroascorbico), fisiologicamente attiva in entrambe le forme (Wills e Greenfield, 1981). La vitamina C è molto delicata ed è soggetta a deterioramento a causa del calore, della luce e dell'aria. Tuttavia il kiwi presenta una robusta buccia capace di proteggere l'integrità della vitamina dagli agenti esterni.

Il potere antiossidante dei frutti non è, però, costante, ma dipende da numerosi fattori ambientali e culturali e tra questi l'epoca di raccolta svolge un ruolo chiave nella concentrazione dei composti ad azione antiossidante, in particolare della vitamina C. Questo aspetto diventa importante soprattutto laddove si punti a un prodotto di elevate caratteristiche organolettiche, che vengono generalmente incrementate da un'epoca di raccolta piuttosto tardiva. È pertanto di estremo interesse la determinazione della dinamica dei composti ad azione antiossidante durante il processo di maturazione pre-raccolta e in fase di conservazione prima del consumo.

Con questo lavoro si è voluto stimare la capacità antiossidante e il contenuto in acido ascorbico in frutti di actinidia [*Actinidia deliciosa* (A.Chev.) C.F. Liang & A.R. Ferguson, cv Hayward] in funzione dell'epoca di raccolta e dell'esposizione a temperatura ambiente dopo un prolungato periodo (5 mesi) di conservazione in atmosfera controllata.

Materiali e metodi

I frutti di actinidia sono stati forniti dall'azienda agricola Camillo Pacini e figli di Rigoli, Pisa, leader nella produzione frutticola di qualità (kiwi, albicocco e susino) a livello regionale. L'azienda si è resa disponibile a collaborare a questo progetto al fine di caratterizzare e migliorare ulteriormen-



La capacità antiossidante della polpa dei frutti di actinidia è dovuta a diverse sostanze. Nella foto l'impianto a palmetta da cui provenivano i frutti esaminati

te la qualità del prodotto che immette sul mercato.

I frutti sono stati prelevati da porzioni di chioma bene esposte alla luce su piante di 13 anni, allevate a palmetta alle distanze di 4,5×5,0 m. L'impianto, realizzato su terreno di medio impasto, con elevata dotazione di sostanza organica, era sottoposto a inerbimento dell'interfilare e irrigato per microaspersione. La tecnica colturale, la fertilizzazione e la difesa da crittogame e parassiti sono state predisposte secondo i disciplinari di produzione biologica, a cui l'azienda aderisce da alcuni anni.

La valutazione dei parametri qualitativi è stata effettuata su frutti raccolti a maturazione commerciale (8-11-2004); secondo le consuetudini dell'azienda, molto attenta agli aspetti qualitativi della produzione, i frutti presentavano mediamente una resistenza al penetrometro di circa 9 kg/cm² e un tenore zuccherino di almeno 9 °Brix. Una seconda raccolta è stata effettuata dopo 15 giorni (23-11-2004) di ulteriore permanenza sulla pianta (maturazione tardiva) su 2 piante per 8 file contigue.

I frutti sono stati immagazzinati presso il centro aziendale in celle frigorifere ad atmosfera controllata (AC) e conservati per circa 5 mesi. All'inizio di aprile (4-4-2005) sono state effettuate le analisi sui frutti, raccolti sia a maturazione commerciale che tardiva, appena prelevati dalla cella AC, oppure mantenuti per 7 giorni a temperatura e atmosfera ambiente (AN).

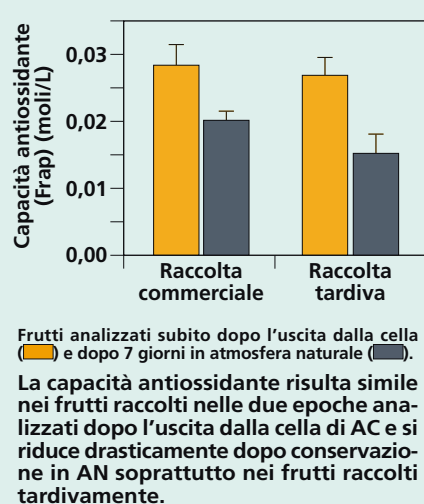
Sono stati determinati, inoltre: la capacità antiossidante e dei fenoli con il metodo Frap (*Ferric reducing antioxidant power*), che sfrutta il potere antiossidante ferroriducente (1); il contenuto in acido ascorbico e deidroascorbico, la cui somma (ASA_{TOT}) corrisponde alla vitamina C (in mg/100 g di peso fresco) secondo il protocollo proposto da Kampfenkel *et al.* (1995); il contributo percentuale dell'acido ascorbico alla capacità antiossidante (2).

Risultati e discussione

In generale, la capacità antiossidante dei frutti freschi varia ampiamente; tuttavia, è noto che il kiwi, insieme ad altri frutti come l'uva, possiede una elevata capacità antiossidante (Szeto *et al.*, 2002).

Nessuna differenza significativa è stata rilevata nella stima della capacità antiossidante dei frutti di actinidia conservati in AC per 5 mesi in funzione del momento della raccolta. Infatti, come evidenziato nel *grafico 1*, il valore della capacità antiossidante è risultata simile nei frutti raccolti al momento della maturazione commerciale e in quelli a maturazione tardi-

Grafico 1 - Capacità antiossidante in frutti di actinidia raccolti in due epoche e conservati in AC



va, analizzati immediatamente dopo l'uscita dalla cella di AC.

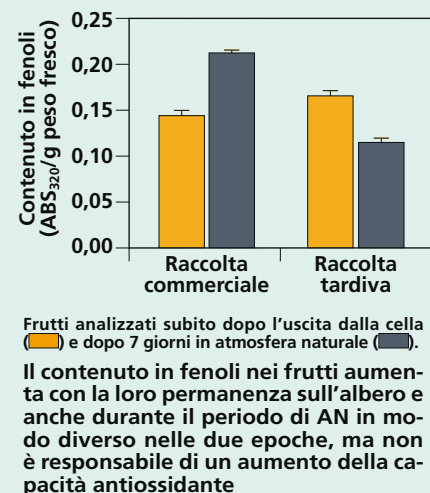
La successiva esposizione dei frutti a temperatura ambiente dopo la prolungata frigoconservazione ha determinato, invece, effetti negativi sulla capacità antiossidante che si è ridotta significativamente indipendentemente dall'epoca di raccolta.

I nostri dati hanno rilevato un rapido decadimento della capacità antiossidante nei frutti di kiwi a seguito della esposizione a temperatura ambiente dopo la conservazione in AC, soprattutto nei frutti raccolti più tardivamente. Si conferma come le caratteristiche qualitative e nutrizionali dei frutti vengano negativamente influenzate dalla modalità di conservazione nonché dalle operazioni eseguite nel periodo post-raccolta (Lee e Kader, 2000).

La capacità antiossidante dei frutti è determinata dalla presenza nei loro tessuti di diversi metaboliti, come fenoli o acido ascorbico, che svolgono un'azione antiossidante verso le Ros, ritenute implicate in alcune importanti patologie umane. Il contenuto in fenoli dell'actinidia aumenta in funzione della maggiore permanenza dei frutti sull'albero (*grafico 2*). Anche l'esposizione ad AN per 7 giorni influenza il contenuto in fenoli anche se in modo diverso in funzione dell'epoca di raccolta. Infatti nei frutti raccolti a maturazione commerciale si registra un incremento significativo nel contenuto in fenoli dopo conservazione a temperatura ambiente per 7 giorni, mentre in quelli raccolti in epoca tardiva il contenuto in fenoli si riduce significativamente.

L'aumento del contenuto in fenoli registrato nei frutti durante il periodo di AN non è tuttavia responsabile di un incremento della capacità antiossidante che, come visto in precedenza, si riduce significativamente.

Grafico 2 - Contenuto in fenoli in frutti di actinidia raccolti in due epoche diverse e conservati in AC per 5 mesi

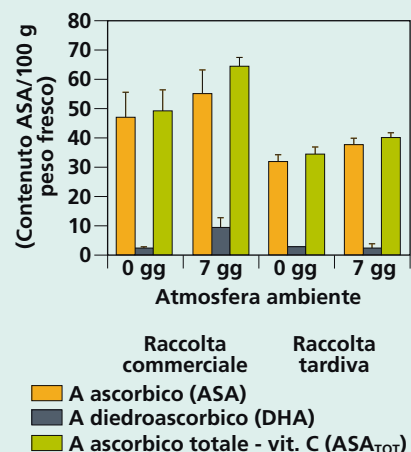


È noto che il composto organico che contribuisce in misura maggiore alla capacità antiossidante nei frutti di kiwi è rappresentato dall'acido ascorbico che è particolarmente abbondante nelle cellule della polpa verde (Scalzo *et al.*, 2005).

Come appare evidente dal *grafico 3*, il momento della raccolta influenza notevolmente le caratteristiche salutistiche dei frutti al termine della conservazione in AC. La vitamina C si riduce significativamente nei frutti raccolti tardivamente rispetto a quelli a maturazione commerciale. In questi ultimi si registra anche un incremento del contenuto in vitamina C (ASA_{TOT}) a seguito dell'esposizione ad AN per 7 giorni; tale aumento non è invece così evidente nei frutti raccolti in epoca tardiva.

Questi dati sembrano in contrasto con quanto riportato da Lee e Kader (2000) i quali indicano come lo stadio di maturazione (Autori: la maturazione «fisiologica») dei frutti sia uno dei più importanti fattori che influenzano la qualità. Questi autori riportano che nei frutti l'ASA aumenta durante la maturazione e in particolare questo incremento è evidente nei frutti lasciati a maturare sull'albero. I nostri risultati, invece, evidenziano come l'ASA aumenti principalmente nei frutti raccolti a maturazione commerciale, conservati in AC e successivamente mantenuti a temperatura ambiente per 7 giorni. D'altra parte altri autori (Slaughter e Crisosto, 1998) evidenziano come nel kiwi l'epoca di raccolta (Autori: definisci) rappresenti un importante elemento per le caratteristiche organolettiche durante la conservazione post-raccolta. Secondo questi autori, la raccolta precoce dei frutti determina una minore qualità, mentre la raccolta tardiva ne induce il rammollimento e riduce di conseguenza il periodo di conservazione in AC.

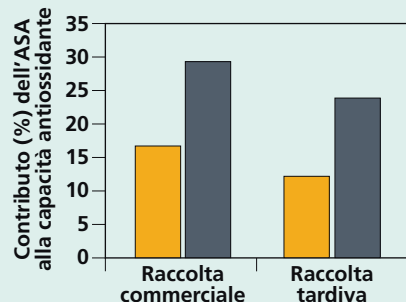
Grafico 3 - Acido ascorbico, diidroascorbico e ascorbico totale in frutti di actinidia raccolti in due epoche diverse prima della conservazione in AC per 5 mesi (*)



(*) a diversi tempi di esposizione a temperatura e atmosfera ambiente (AN) dopo la conservazione: dopo l'uscita dalla cella (0 gg in AN) e dopo 7 giorni in atmosfera naturale.

La vitamina C è a livelli più elevati nei frutti raccolti a maturazione commerciale nei quali aumenta anche dopo esposizione ad AN per 7 giorni.

Grafico 4 - Contributo percentuale dell'acido ascorbico (ASA) alla capacità antiossidante in frutti di actinidia in due differenti epoche di raccolta



Frutti analizzati subito dopo l'uscita dalla cella (0 gg) e dopo 7 giorni in atmosfera naturale (7 gg).

Nei frutti raccolti a maturazione commerciale il contributo dell'ASA è superiore; l'esposizione dei frutti alla temperatura ambiente ne determina un incremento.

C al potere antiossidante in frutti di kiwi sottoposti a epoca di raccolta e modalità di conservazione differenziate. I risultati ottenuti hanno dimostrato che percentualmente l'acido ascorbico contribuisce al potere antiossidante totale del frutto dell'actinidia dal 12 al 30% in funzione anche dell'epoca di raccolta e della conservazione. Questo fa supporre che altri antiossidanti, oltre alla vitamina C, giochino un ruolo importante nel determinare la capacità antiossidante della polpa dei frutti.

L'epoca di raccolta incide in modo notevole sulle caratteristiche salutistiche: la capacità antiossidante rimane inalterata, ma il contenuto in vitamina C diminuisce significativamente ritardando l'epoca di raccolta. Un ritardo eccessivo, pertanto, può determinare un minore valore salutistico del kiwi dopo lunghi periodi di conservazione e causare, inoltre, una rapidissima perdita di consistenza della polpa dopo l'uscita dei frutti dalla cella di conservazione (autori: affermazione da supportare).

Diversa risulta l'influenza dell'esposizione dei frutti a temperatura ambiente dopo la fase di conservazione frigorifera, situazione che simula le reali condizioni di conservazione presso il punto vendita e presso l'abitazione del consumatore. In questa fase si evidenzia una riduzione della capacità antiossidante e un incremento di vitamina C.

I risultati ottenuti evidenziano come fattori, quali la maturazione del frutto e l'esposizione all'aria dopo la conservazione frigorifera in AC prolungata, influenzano le caratteristiche nutrizionali e qualitative. Il lavoro rappresenta un primo approccio allo studio dell'influenza dei fattori di pre- e/o post-raccolta sulla com-



Durante la conservazione dei frutti a temperatura ambiente dopo la conservazione frigorifera, che simula le reali condizioni presso il punto vendita e presso l'abitazione del consumatore, si verifica una riduzione della capacità antiossidante e un incremento di vitamina C.

posizione nutrizionale del kiwi. A tale proposito sono state avviate ulteriori ricerche per la determinazione del potenziale impatto delle pratiche colturali e delle tecniche di post-raccolta sulla qualità del kiwi e sul suo valore nutraceutico.

Silvia Tavarini
Elena Degl'Innocenti
Lucia Guidi
 Dipartimento di chimica
 e biotecnologie agrarie
 Università di Pisa

Damiano Remorini
Rossano Massai
 Dipartimento di coltivazione e difesa delle
 specie legnose "G. Scaramuzzi"
 Università di Pisa

Gli autori ringraziano l'Azienda agricola Camillo Pacini e Figli (Rigoli, Pisa), che ha ospitato le prove di raccolta e di conservazione dei frutti.

Lavoro presentato al XXIII Convegno annuale della società italiana di chimica agraria (Sica), Torino, 20-23 settembre 2005.

(1) Il protocollo seguito era quello proposto da Kang e Saltveit (2002). Per calcolare il contenuto in Frap si è utilizzata una curva di taratura di concentrazioni note di solfato ferroso (Benzie e Strain, 1996); il valore finale del contenuto in Frap era espresso come moli di Fe^{2+}/L . Sullo stesso estratto si è proceduto alla determinazione del contenuto in fenoli, espresso come ABS_{320}/g di peso fresco (Kang e Saltveit, 2002).

(2) Il contributo percentuale dell'acido ascorbico alla capacità antiossidante è stato calcolato come segue: $[ASA (\mu\text{moli}/L) \times 2 / \text{Frap} (\mu\text{moli}/L) \times 100]$ (Szeto *et al.*, 2002).

La bibliografia verrà pubblicata negli estratti.

Per meglio caratterizzare il coinvolgimento della vitamina C nel determinare la capacità antiossidante dei frutti di kiwi, è stato stimato il contributo percentuale dell'acido ascorbico (ASA) alla capacità antiossidante totale (grafico 4). I risultati dimostrano che, nel caso dei frutti raccolti a maturazione commerciale, esso contribuisce per il 17% alla capacità antiossidante, mentre in quelli raccolti in epoca tardiva per il 12%. L'esposizione dei frutti a temperatura ambiente determina un incremento del contributo dell'ASA alla capacità antiossidante. Ciò potrebbe indicare che durante la conservazione in AN esso contribuisce in misura maggiore alla capacità antiossidante rispetto al momento dell'uscita dalla cella in AC, sia per i frutti della raccolta commerciale che di quelli a raccolta tardiva. I dati relativi al contributo dell'ASA alla capacità antiossidante determinata mediante il metodo Frap (1) nei frutti di kiwi sono, peraltro, simili a quelli riportati da Guo *et al.* (2003) (autore: significato di questa affermazione).

Conclusioni

I prodotti frutticoli rappresentano un'indubbia fonte di sostanze (acido ascorbico, polifenoli, vitamina E, ecc.) la cui azione è importante per la prevenzione e/o la cura di numerose patologie umane. Diverse molecole organiche svolgono questa azione antiossidante ed è molto difficile misurare il contributo di ciascuna di esse in tal senso. In questo lavoro è stato stimato il contributo della vitamina

Influence of Canopy Position on Kiwifruit Quality

D. Remorini¹, S. Tavarini², E. Degl'Innocenti², L. Guidi², B. Dichio³ and R. Massai¹

¹ Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose 'G. Scaramuzzi', University of Pisa, Via del Borghetto 80, 56124, Pisa, Italy

² Dipartimento di Chimica e Biotecnologie Agrarie, University of Pisa, Via S. Michele degli Scalzi 2, 56124, Pisa, Italy

³ Dipartimento di Scienze dei Sistemi Culturali, Forestali e dell'Ambiente, University of Basilicata, Viale dell'Ateneo Lucano 85, 85100 Potenza, Italy

Keywords: *Actinidia deliciosa*, ascorbic acid, fruit quality, light

Abstract

The influence of canopy position on several kiwifruit quality attributes was evaluated. The experiment was conducted on fruit from a commercial kiwifruit orchard (*Actinidia deliciosa* 'Hayward') located at Rigoli (Pisa, Italy), in 2004 growing season, where vines were trained as a free palmette. Fruit were harvested from four different positions of the canopy; the positions (external- and internal-top, external- and internal- bottom) were characterized by a different quantity of daily intercepted solar radiation. At harvest some fruit quality attributes were measured (i.e., weight, soluble solids content and flesh firmness) and fruit analysed for ascorbic acid and chlorophylls content. Canopy position markedly influenced some of the quality attributes studied, particularly fruit ascorbic acid content.

INTRODUCTION

Fruits and vegetables contain organic compounds with physiological and biochemical functions which benefit human health and for this reason food has assumed the status of "functional food" which plays a key role in the prevention of important human pathologies. Fruit of kiwifruit are characterized by high amounts of vitamin C (ascorbic and dehydroascorbic acid) (Wills and Greenfield, 1981) that is higher than in orange, strawberry, lemon and grape fruits and Beever and Hopkirk (1990) showed that vitamin C in kiwifruit was ten times higher than in apples and peaches. In particular, some authors (Selman, 1983; Lintas et al., 1991) found that the vitamin C concentration in 'Hayward' kiwifruit ranged from 37 to 200 mg/100 g fresh weight.

However, the content of phytochemical substances is influenced by ripening time, genotype, cultivation, and climatic conditions that occur during the preharvest period, but also the processing and storage conditions are very important (Lee and Kader, 2000). Esti et al. (1998) observed that the vitamin C content of kiwifruit depends on genotype, ripening stage and storage. Among pre-harvest factors, light intensity and position of fruit in the canopy are very important for concentration of phytochemicals in fruit. Light is the environmental factor that has the largest influence on quality of many tree crops, including apple, grape and kiwifruit. Klein and Perry (1982) showed that climatic conditions, including light and temperature, had a strong influence on the chemical composition of horticultural crops. Although light is not essential for the synthesis of ascorbic acid in plants, the amount and intensity during the growing season has a definite influence on the amount of ascorbic acid formed. Ascorbic acid is synthesized from sugars supplied through photosynthesis in plants. Outside fruit exposed to maximum sunlight contain higher vitamin C concentrations than do inside and shaded fruit on the same plant (Harris, 1975). Biasi et al. (1997) observed that light influenced other important characteristics such as flesh-firmness and soluble solids content (SSC). Shading within trees reduced fruit quality in many fruit species. Light can also influence the mineral composition of fruit and the potential for transportation of nutrients to fruit through the transpiration stream (Montanaro et al., 2006). In addition, light also influences phenolics biosynthesis in kiwifruit. Kiwifruit vines can produce a dense canopy that results in low light levels in the fruiting zone at the bottom of the canopy.

The objective of this work was to evaluate the influence of canopy position on some kiwifruit quality attributes, such as ascorbic acid (ASA) and chlorophyll content. Flesh firmness, soluble solids content and fruit fresh weight were also measured.

MATERIALS AND METHODS

Trials were conducted on fruit from a commercial kiwifruit (*Actinidia deliciosa* 'Hayward') orchard at Rigoli (Pisa, Italy), in the 2004 growing season. Vines were trained as a free palmette.

Fruit were harvested from four different positions of the canopy (external- and internal- top, external- and internal- bottom), characterized by different quantities of daily intercepted solar radiation. At harvest, after 4 months of cool storage (CS), and after 1 week of storage at ambient temperatures (AT) some fruit quality attributes were measured (i.e., fresh weight, soluble solids content, flesh firmness) and fruit analysed for ascorbic acid and chlorophyll content as well as for total antioxidant capacity using the FRAP assay.

Extraction and Analysis of Pigments

The absorbance at different wavelengths (663.2 nm for Chl *a*, 648.8 nm for Chl *b*, 470 nm for carotenoids) of extracts in acetone (80%) was determined. Pigment concentrations were expressed as $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Porra et al., 1989).

Extraction and Analysis of Vitamin C

Procedures used were as described by Degl'Innocenti et al. (2005) based on the method of Kampfenkel et al. (1995) for spectrometric determination of ascorbic acid (ASA) and total ascorbic acid (total ASA). Dehydroascorbic acid (DHA) was determined as difference between total ASA and ASA. Vitamin C was expressed as mg/100 g FW.

Qualitative Characteristics

Flesh-firmness (FF) and soluble solids content (SSC) were determined on opposite faces of the fruit using a digital penetrometer and refractometer respectively. Sugar content was expressed in °Brix and FF in Kg.

Statistical Analysis of Data

The results represent the mean of different replicates. A two way ANOVA test was carried out for ascorbic acid, chlorophyll, fresh weight, flesh-firmness and SSC analysis, with different canopy positions (internal and external, top and bottom) as variables. For the mean comparison, the LSD test was used.

RESULTS AND DISCUSSION

Canopy position significantly influenced total chlorophyll (Fig. 1) and vitamin C (Fig. 2) content. Total chlorophyll is an important organoleptic characteristic which strongly influenced the choice of consumers; in addition these pigments also influence the health promoting effects of foods (Nishiyama et al., 2005). Chlorophyll contents showed the highest values in external exposed fruit at the top of the canopy, while lowest values were recorded in internal fruit at the bottom of the canopy (Fig. 1). It is known that chlorophyll biosynthesis is strongly influenced by the light quantity available to plant tissues.

Fruit harvested from the external top of the canopy showed the higher values of vitamin C compared with the lower shaded fruit. This result is important for fruit quality as an increase in ascorbic acid and in the attractive green colour of flesh are important elements contributing to total fruit quality. The canopy position effect was probably due to the degree of light exposure: fruit inside the vine canopies received much less solar radiation than external fruit.

Light exposure also influenced ripening and quality attributes such as FF, FW and SSC (Table 1). Fresh weight of both external and internal fruit at the top of the canopy

was higher than for fruit at the bottom of the canopy, whereas there were no differences in FF. Similar results were obtained by Pyke et al. (1996). Soluble solids content was higher in fruit positioned at the top, and external fruit from the bottom of the vine canopy, than recorded in internal bottom fruit, results similar to those found by other authors. Harris (1975) showed that fruit exposed to maximum sunlight had the highest amounts of vitamin C, and Biasi et al. (1997) found that light influenced important attributes such as SSC.

These results underline the important role of pre-harvest factors on the qualitative and nutritional characteristics of kiwifruit. Light is particularly important as it influenced organoleptic and nutritional characteristics of the fruit. Fruit exposed to light in the external top position had increased SSC, vitamin C and chlorophyll contents compared with fruit in the internal bottom part of the canopy.

The most effective means of improving the antioxidant content of the diet is the right choice of fruit and vegetables. Genetic variability influences the antioxidant content (Tavarini et al., 2007). Once varieties have been characterized based on their high content in phytochemicals, pre- and postharvest environmental factors can strongly influence antioxidant content. Therefore research should be directed to studying the influence of these important factors in order to develop management tools and technologies for use in the cultivation of fruit and vegetables to enhance intrinsic quality attributes.

Literature Cited

- Beever, D.J. and Hopkirk, G. 1990. Fruit development and fruit physiology. p.97–126. In: I.J. Warrington and G.C. Weston (eds.), *Kiwifruit: Science and Management*. Ray Richards and NZ Soc. Hort. Sci., Auckland.
- Biasi, R., Costa, G. and Manson, P.J. 1997. Light influence on kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) quality. *Acta Hort.* 379:245–252.
- Degl'Innocenti, E., Guidi, L., Pardossi, A. and Tognoni, F. 2005. Biochemical study of leaf browning in minimally processed leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *acephala*). *J. Agri. Food Chem.* 53:9980–9984.
- Esti, M., Messina, M.C., Bertocchi, P., Sinesio, F., Moneta, E., Nicotra, A., Mantechi, P. and Palleschi, G. 1998. Chemical compounds and sensory assessment of kiwifruit (*Actinidia chinensis* (Planch.) var. *chinensis*): electrochemical and multivariate analyses. *Food Chem.* 3:293–300.
- Harris, R.S. 1975. Effects of agricultural practices on the composition of food. p.33–57. In: R.S. Harris and E. Karmas (eds.), *Nutritional Evaluation of Food Processing*, 2nd ed. AVI, Westport, CT.
- Kampfenkel, K., Van Montagu, M. and Inze, D. 1995. Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue. *Anal. Biochem.* 225:165–167.
- Klein, B.P. and Perry, A.K. 1982. Ascorbic acid and vitamin A activity in selected vegetables from different geographical areas of the United States. *J. Food Sci.* 47:941–945.
- Lee, S.K. and Kader, A.A. 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biol. Technol.* 20:207–220.
- Lintas, C., Adorisio, S., Cappelloni, M. and Monastra, E. 1991. Composition and nutritional evaluation of kiwifruit grown in Italy. *NZ J. Crop Hort. Sci.* 19:341–344.
- Montanaro, G., Dichio, B., Xiloyannis, C. and Celano, G. 2006. Light influences transpiration and calcium accumulation in fruit of kiwifruit plants (*Actinidia deliciosa* var. *deliciosa*). *Plant Sci.* 170:520–527.
- Nishiyama, I., Fukuda, T. and Oota, T. 2005. Genotypic differences in chlorophyll, lutein and β -carotene contents in the fruits of *Actinidia* species. *J. Agri. Food Chem.* 53:6403–6407.
- Porra, R.J., Thompson, W.A. and Kriedman, P.E. 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verifications of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta.* 975:384–394.

- Pyke, N., Hopkirk, O., Alspach, P.A. and Cooper, K.M. 1996. Variation in harvest and storage quality of fruit from different positions on kiwifruits vines. NZ J. Crop Hort. Sci. 24:39–46.
- Selman, J.D. 1983. The vitamin C content of some kiwifruits (*Actinidia chinensis* Planch., variety Hayward). J. Sci. Food Agri. 47:401–416.
- Tavarini, S., Degl’Innocenti, E., Remorini, D., Massai, R. and Guidi, L. 2007. Preliminary characterization of peach cultivars for their antioxidant capacity. Int. J. Food Sci. Technol. (in press).
- Wills, R.B.H. and Greenfield, H. 1981. Methodological considerations in producing data for food composition tables. Food Tech. Aust. 33:122–124.

Tables

Table 1. Influence of canopy position on fruit weight, flesh firmness and solid soluble content in kiwifruit. Each value is the mean of ten replicates. Means followed by the same letter are not significantly different at $P = 0.05$ following two way ANOVA test.

| | Weight (g) | Flesh Firmness (kg) | SSC (°Brix) |
|-----------------|------------|---------------------|-------------|
| External Top | 118.5 a | 5.1 a | 8.0 a |
| Internal Top | 119.1 a | 5.0 a | 7.9 a |
| External Bottom | 108.9 b | 4.5 a | 7.3 ab |
| Internal Bottom | 107.8 b | 4.7 a | 6.7 b |

Figures

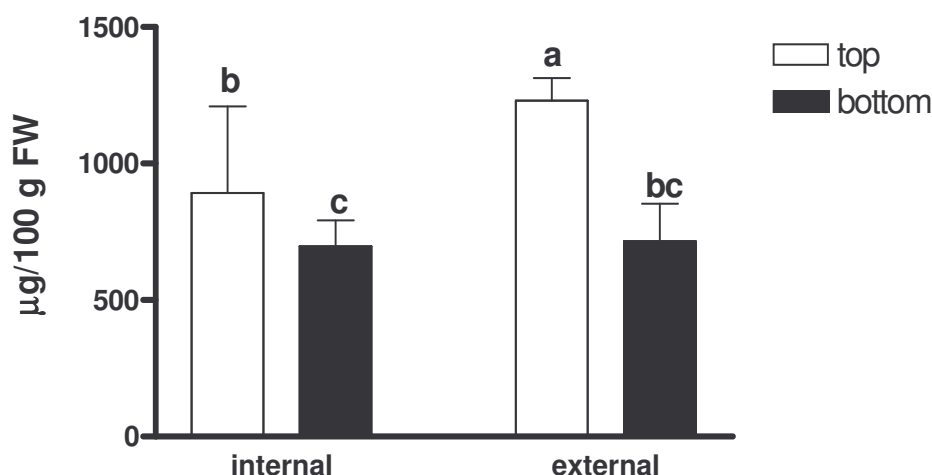


Fig. 1. Total chlorophyll content in fruit of *Actinidia*. Each value is the mean of three replicates. Bars indicate the standard deviation. Means followed by same letter are not significantly different at $P = 0.05$ following two-way ANOVA test.

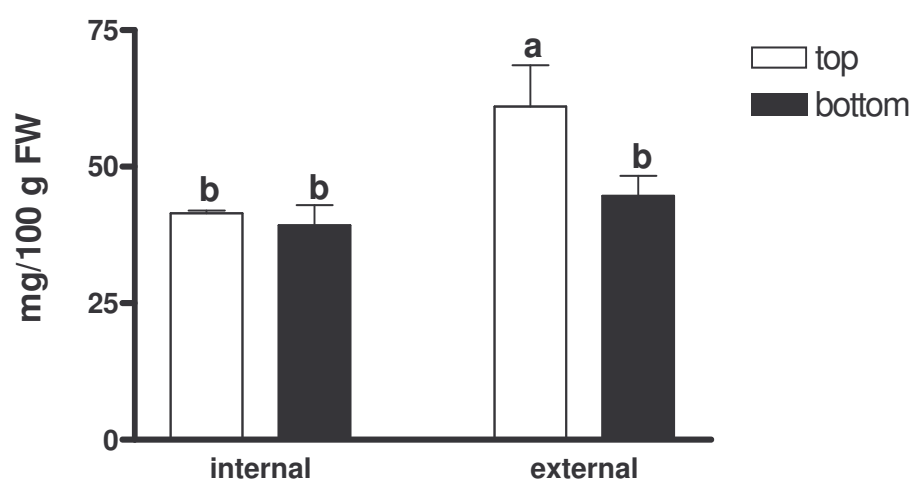


Fig. 2. Vitamin C content in fruit of *Actinidia*. Each value is the mean of three replicates. Bars indicate the standard deviation. Means followed by the same letter are not significantly different at $P = 0.05$ following two-way ANOVA test.



Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit

Silvia Tavarini^a, Elena Degl'Innocenti^a, Damiano Remorini^b,
Rossano Massai^b, Lucia Guidi^{a,*}

^a *Dipartimento di Chimica e Biotecnologie Agrarie (DCBA), University of Pisa, Via del Borghetto 80, 56124 Pisa, Italy*

^b *Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose "G. Scaramuzzi" (DCDSL), University of Pisa, Via del Borghetto 80, 56124 Pisa, Italy*

Received 26 April 2007; received in revised form 3 July 2007; accepted 6 August 2007

Abstract

The influences of harvest time and storage on the quality indices and nutritional content of kiwifruit were evaluated. Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenol content, carotenoids, soluble solids content and flesh firmness were determined in kiwifruit gathered at two different time (T1: 17-11-2005 and T2: 24-11-2005) and stored at 0 °C, for 2 or 6 months (S1 and S2, respectively). At the end of the cool storage, fruits were maintained for a week at 25 °C (S1 + 7d and S2 + 7d).

The flesh firmness was reduced at the end of cool storage and the soluble solids content significantly increased, for exception of fruits harvested at T2 and stored for 6 months at 0 °C and a week at ambient temperature (S2 + 7d). Some nutritional characteristics such as vitamin C and carotenoids were higher in fruits gathered at T1 but these parameters were strongly influenced by storage, with a general decrease at the end of the long cool storage (6 months). Differently, no influence of long storage was observed in the fruit collected at T2 time. The maintenance for a week at room temperature, after long cool storage, determined an improvement of nutritional characteristics of kiwifruits. In conclusion, fruits harvested at T2 seem to improve their quality after a long storage (6 months) because they reach nutritional values similar or higher than those recorded in fruits at the harvest time. In spite of these positive results, these fruits showed a reduction in organoleptic characteristics which could negatively influence the fruit marketing. The obtained results underline the important role of the pre- and post-harvest factors on the qualitative and nutritional characteristics of kiwifruits.

© 2007 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Antioxidant capacity; Ascorbic acid; Harvest time; Kiwifruit; Phenols; Storage

1. Introduction

Fruit and vegetables contain significant levels of biologically active components with physiological and biochemical functions which benefit human health. In the last few years, food has assumed the status of “functional food”; in fact, it must satisfy the nutritional requirements and, at the same time, it can bring several physiological benefits, such as the prevention of important pathologies. More than any other type of food, fruit benefits from having a

healthy halo, a halo that's being constantly burnished by a steady stream of news about fruit's intrinsic health benefits. In fact, fruit is an excellent food characterised by a low content of calories and a high amount of antioxidant substances which are able to prevent a wide range of pathologies, such as cancer, cardio-vascular diseases, and degenerative illnesses connected to the aging processes. For this reason, fruit and vegetables represent a major source of dietary antioxidants. Kiwifruit is small caloric and has high amounts of vitamin C (Wills & Greenfield, 1981); it also contains significant amounts of pigments, including chlorophylls and carotenoids. In kiwifruits, the vitamin C content is higher than that determined in orange, strawberry, lemon and grape-fruits and Beever and Hopk-

* Corresponding author. Tel.: +39 50 2216613; fax: +39 50 2216630.
E-mail address: guidilu@agr.unipi.it (L. Guidi).

irik (1990) showed that vitamin C content in kiwifruit was ten fold higher than the same content found in apple and peach. In particular, some authors (Lintas, Adorisio, Cappelloni, & Monastrà, 1991; Selman, 1983) recorded that vitamin C concentration in fruits of cv. 'Hayward' changed from 37 to 200 mg/100 g of fresh weight. In addition, kiwifruit is a nutritious fruit distinguishable from other fruits by the attractive green colour of their flesh; this colour is mainly due to chlorophylls *a* and *b* (Fuke, Sasago, & Mats-uoka, 1985; Possingham, Coote, & Hawker, 1980).

The content of phytochemical substances is influenced by numerous factors such as ripening time, genotype, cultivation techniques, climatic conditions that occur during the pre-harvest period but also the operations carried out during the post-harvest storage are very important (Lee & Kader, 2000). Esti et al. (1998) have observed that the vitamin C content of kiwifruit depends on genotype, ripening degree, storage and the analysis method utilised. Indeed, these authors showed that the ascorbic acid (AA) content in kiwifruit samples from genotypes of *Actinidia chinensis* (Planch) var. *chinensis* was higher than the typical mean content in *Actinidia deliciosa* (A. Chev) cv. 'Hayward'. Generally, Imeh and Khokhar (2002) underlined various factors (agronomic, genomic, pre- and post-harvest conditions and processing) which may affect the chemical composition of plant foods and they may have a significant role in determining the phenolic composition and the bio-activity of these compounds.

Maturity stage is another important factor that influences the compositional quality of fruit and vegetables. In fact, during fruit ripening, several biochemical, physiological and structural modifications happen and these changes determine the fruit quality attributes. Harvesting at the proper maturity stage is essential for optimum quality and often for the maintenance of this quality after harvest and storage. In fact, storage can influence the quality indices and nutritional content of fresh fruit. During post-harvest storage of horticultural crops, important changes in antioxidant status can occur (Ayala-Zavala, Wang, Wang, & Gonzales-Aguilar, 2004). Temperature management is the most important tool to extend shelf-life and maintain quality of fresh fruit and vegetables (Lee & Kader, 2000).

In relation to the importance of phytochemicals and antioxidant power for functional aspect of kiwifruits, the aim of this work was to evaluate the influence of harvest time and storage on several kiwifruit quality attributes, such as vitamin C content, carotenoid content, antioxidant capacity and total phenols. Moreover, the flesh firmness (FF) and the soluble solids content (SSC) of fruits have been estimated.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Trials were conducted in the 2005 growing season on fruits from a commercial kiwifruit orchard (*Actinidia delici-*

osa, cv. "Hayward") located at Rigoli (Pisa, Italy), where vines were trained as a free palmette.

The quality indices were evaluated at two different time of harvest [November 17 (T1) and 24 (T2) 2005] when fruits have reached 8° and 10° Brix, respectively, measured directly in the field on 20 fruit samples randomly collected on the whole canopy of more plants in the orchard. Two other groups, composed by 40 fruits each, were stored at 0 °C, for 2 or 6 months (S1 and S2, respectively). At the end of cold storage, indices were measured in 20 fruits whereas the last 20 fruits were maintained for another week at room temperature (S1 + 7d and S2 + 7d, respectively for the two storage lengthiness). After this period fruits were analysed for their quality indices.

The quality indices measured were soluble solids content, flesh firmness but ascorbic acid, carotenoids and phenolic content as well as total antioxidant capacity were also determined.

2.2. Antioxidant capacity

The method used to test the antioxidant capacity measured the iron-reducing capacity of a pool of antioxidant substances of the extracts of the kiwifruit. The FRAP method is developed to measure the ferric reducing ability of a fruit extract at low pH. The FRAP assay treats the antioxidant as reductants in a redox-linked colorimetric reaction. An intense blue colour is formed when the ferric-tripyridyltriazine (Fe^{3+} -TPZ) complex is reduced to the ferrous form at 593 nm. The Fe^{2+} makes a complex with 2,2'-dipyridil. The procedures used were reported in Tavarini, Degl'Innocenti, Pardossi, and Guidi (2007). The final value of antioxidant capacity was expressed as mmol Fe^{2+} /100 g FW.

2.3. Extraction and analysis of carotenoids

The absorbance at $\lambda = 470$ nm of extracts in acetone (80%) was determined (Porra, Thompson, & Kriedman, 1989). The pigment concentrations were expressed in μg /100 g FW.

2.4. Extraction and analysis of vitamin C

Procedures used were as described by Degl'Innocenti, Guidi, Pardossi, and Tognoni (2005) based on the method of Kampfenkel, Van Montagu, and Inze (1995) for the spectrophotometric determination of ascorbic acid (vitamin C). The Vitamin C content was expressed as mg/100 g FW.

2.5. Extraction and analysis of phenols

Phenols were analysed by using the method reported by Dewanto, Adom, and Liu (2002) based on the method of Folin-Ciocalteu, that involves reduction of the reagent by phenolic compounds, with concomitant formation of a blue complex. The values were expressed as mg gallic acid/100 g FW.

2.6. Flesh firmness

The penetration test regards the measure of the necessary strength to imprint to the flesh-fruit a metal point of a dynamometer, to an established distance. The measure was performed on two opposite faces of the equatorial zone by using a digital penetrometer installed on a driving column equipped with an 8 mm probe (Model 53205, TR, Forlì, Italy). Measurements were carried out on a flat surface by removing the skin from two side of the fruits.

2.7. Soluble solids concentration

Soluble solids concentration (SSC) was estimated by the mean of two refractometer readings taken for the juice. A digital refractometer (Model 53011, TR, Forlì, Italy) was used. Measurements were carried out at the same sites as FF and was expressed as °Brix.

2.8. Statistical analysis

Data were subjected to a repeated measures two ways analysis of variance (ANOVA) to determine the significance of differences between treatments which consisted in harvest time and storage. Least significant difference at 5% level (LSD) was calculated to compare differences between means following a significant ANOVA effect. The comparison was carried out to evidence differences among different storage modality. For analysis of correlation between antioxidant capacity and antioxidant substances, the regression analysis was carried out.

3. Results and discussion

3.1. Quality indices

Soluble solids content and firmness of kiwifruit at the two harvest times and at the end of storage have been reported in Table 1. The flesh firmness significantly decreased during storage independently to the harvest time; the lowest values were registered in fruits maintained at ambient temperature for a week after 6 months of cool storage (Table 1). Crisosto and Kader (1999) reported that

late harvest kiwifruit retain their flesh firmness during storage better than early harvested fruits. Also in our case, fruits harvested at T2 maintained a better flesh firmness in comparison to T1 fruit ($P < 0.05$). In comparison with data obtained from Crisosto and Kader (1999), it is important to underline that in our case the first harvest T1 was carried out when fruit was near the physiological maturity stage (8 °Brix). In addition to, in S1 and S2, fruit samples clearly showed symptoms of softening; these symptoms enhanced after a week at ambient temperature. This confirms the influence of temperature on the quality indices of fruit as reported also by other authors. In fact, Marsh et al. (2004) showed that kiwifruit stored at different temperatures softened; in particular, these authors found that fruits held at 10° and 4° were characterised by a softening faster than fruits held at 0 °C.

Soluble solids content of kiwifruit at harvest is considered an index of fruit maturity and an increase in SSC corresponds to a conversion of starch to soluble sugars (MacRae, Bowen, & Stec, 1989). In fruits collected at T1 and stored at 0 °C for 2 months, the SSC significantly increased compared with SSC values determined at harvest time (Table 1). The further conservation (S1 + 7d, S2 and S2 + 7d) of fruits did not influence the SSC which remained significantly similar to the values reached at the end of the cool storage period for 2 months (Table 1). A similar behaviour was observed in fruits collected at T2. Also the cool storage for 6 months did not influence the SSC and, in this case, no variations were registered in the following week at ambient temperature. The SSC of kiwifruit is often believed to be linked to consumer test preference, although a close linkage has not been unequivocally demonstrated or registered (McGlone & Kawano, 1998). Fruits above 12 °Brix are generally considered more acceptable to consumers (Stec, Hodgson, MacRae, & Triggs, 1989). Additionally, fruit with a high SSC at harvest, store well and have a satisfactory flavour when eating-ripe (Beever & Hopkirik, 1990).

3.2. Antioxidant capacity

The antioxidant capacity was not influenced by the harvest time (Fig. 1). In fruits collected at T1 the antioxidant

Table 1

Firmness (kg) and solid soluble content (SSC) in kiwifruits harvested in two different times (T1: 17-11-2005, and T2: 24-11-2005) and stored for 2 (S1) and 6 months (S2) at 0 °C

| | Firmness (kg) | | SSC (°Brix) | |
|----------|----------------|----------------|---------------|---------------|
| | T1 | T2 | T1 | T2 |
| Harvest | 5.89 ± 0.80 a | 4.68 ± 0.19 a | 8.3 ± 0.89 b | 10.4 ± 0.13 b |
| S1 | 1.30 ± 0.09 b | 1.44 ± 0.10 b | 14.3 ± 0.40 a | 13.2 ± 0.26 b |
| S1 + 7 d | 1.26 ± 0.56 b | 1.36 ± 0.71 b | 14.0 ± 0.30 a | 14.0 ± 0.67 a |
| S2 | 0.92 ± 0.04 bc | 1.04 ± 0.11 bc | 14.3 ± 0.43 a | 13.6 ± 0.23 b |
| S2 + 7 d | 0.32 ± 0.01 c | 0.41 ± 0.04 c | 14.6 ± 0.98 a | 13.8 ± 0.34 b |

At the end of the two period of cold storage, fruit were maintained for 7 days at 25 °C (S1 + 7d and S2 + 7d). Each value represents the mean of 5 replicates ± standard deviation. For the two harvest time T1 and T2, means followed by the same letters are not significantly different for $P = 0.05$.

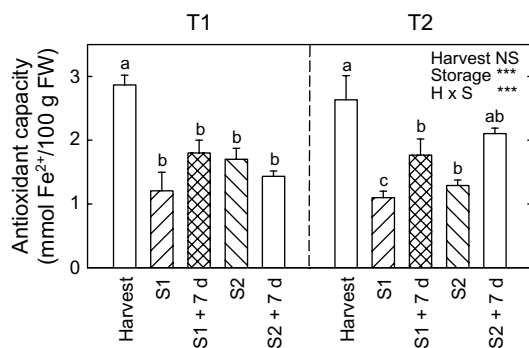


Fig. 1. Antioxidant capacity determined by FRAP assay in kiwifruits harvested in two different times (T1: 17-11-2005, and T2: 24-11-2005) and stored for 2 (S1) and 6 months (S2) at 0 °C. At the end of the two period of cold storage, fruits were maintained for 7 days at 25 °C (S1 + 7d and S2 + 7d, respectively). The bars represent the mean of 3 replicates with standard deviation. For the two harvest time T1 and T2, means followed by the same letters are not significantly different for $P = 0.05$. In the graph results obtained by the two way ANOVA test with harvest time and storage as variability factors are reported.

capacity decreased significantly after 2 months of cool storage (S1); then values of FRAP did not change furthermore. The FRAP values of fruits harvested at T2 significantly decreased after 2 months of cool storage too, but the antioxidant capacity significantly increased when these fruits were maintained for a week at ambient temperature (Fig. 1). The negative effect of cool storage in antioxidant capacity of kiwifruits was detected, also after 6 months of storage at 0 °C. Also in these fruits stored for a long period (6 months) an increase in FRAP values was observed at the end of their maintenance at 25 °C (S2 + 7d). To note, however, that the highest values of antioxidant capacity in kiwifruits had been recorded at the harvest, independently from the time of harvest. These results suggested that the cool storage negatively influenced the total antioxidant capacity of kiwifruits. Shivashankara, Isobe, Al-Haq, Takenaka, and Shina (2004) determined the antioxidant capacity in Irwin mango fruit before and after the storage period and they found that the antioxidant capacity remained unchanged up to 20 days of the storage period and decreased thereafter. Also Connor, Luby, Hancock, Berkheimer, and Hanson (2002) determined a reduction of the antioxidant capacity in 9 cultivars of blueberry fruits during cold-temperature storage (3–5 weeks). These authors found an increase in the antioxidant capacity only in the first post-harvest interval (up to 3 weeks) for 3 cultivars. The fruit antioxidant capacity is attributable certainly to the phytochemical content and, in fact, Connor et al. (2002) linked the increase in antioxidant capacity to the phenol content recorded in the first phase of storage. On the other hand, also Shivashankara et al. (2004) linked the reduction after 20 days of storage mainly to the strong relationship with ascorbic acid and they suggested that an increase in antioxidant capacity during low-temperature storage may be possible only in fruit in which the contribution of total phenolics is greater than that of the ascorbic acid.

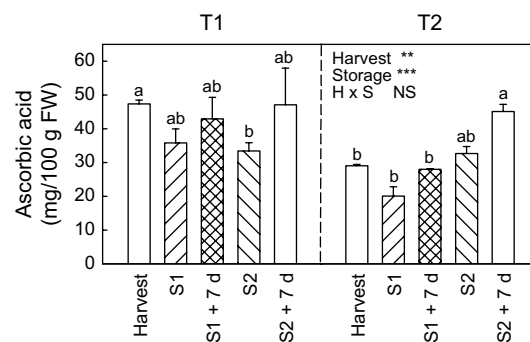


Fig. 2. Ascorbic acid content in kiwifruits harvested in two different times (T1: 17-11-2005, and T2: 24-11-2005) and stored for 2 (S1) and 6 months (S2) at 0 °C. At the end of the two period of cold storage, fruits were maintained for 7 days at 25 °C (S1 + 7d and S2 + 7d). The bars represent the mean of 3 replicates with standard deviation. For the two harvest time T1 and T2, means followed by the same letters are not significantly different for $P = 0.05$. In the graph results obtained by the two way ANOVA test with harvest time and storage as variability factors are reported.

3.3. Vitamin C

In fruit collected at both harvest time (T1 and T2), the ascorbic acid content (AA) did not show differences in the first post-harvest interval (S1 and S1 + 7d) in comparison with the values at harvest (Fig. 2). In kiwifruit collected at T1, the AA significantly decreased at the end of the long storage (S2) and slightly increased again after a week to ambient temperature (S2 + 7d) (Fig. 2). The AA of kiwifruit harvested at T2 did not change at the end of the long storage (S2) and increased during the following week at ambient temperature (S2 + 7d). Generally, freshly fruits contain more vitamin C than those cool-stored (Lee & Kader, 2000) and, moreover, the loss of vitamin C is extremely variable among different fruits and vegetables. The harvest time significantly influenced the ascorbic acid concentration ($P < 0.01$; Fig. 2) and in fact the value registered at T1 was significantly higher than that at T2. The accumulation of AA during ripening depends on type of fruit; Lee and Kader (2000) reported that AA content increased with ripening in apricot, peach and papaya, but decreased in apple and mango. Generally, when fruits become overripe, vitamin C content declines, concurrently with the degradation of fruit tissues (Kalt, 2005).

It is well known that kiwifruit, as well as *Citrus* fruits, are excellent sources of vitamin C (Nishiyama et al., 2004). However, the antioxidant capacity of kiwifruit is not so high as compared with other fruits. Several authors reported, for example, that strawberries have greater antioxidant capacity (two to eleven fold) than apple, peach, pear, grape, tomato, orange or kiwifruit (Halvorsen et al., 2002; Wang, Cao, & Prior, 1996). There is a controversial debate in the literature about the influence of vitamin C on the antioxidant capacity of fruits or vegetables (Guo et al., 2003). On the other hand, it is also known that fruits with high antioxidant capacity generally contain

more antioxidants and most of these antioxidants has been showed to be phenolic compounds and in particular flavonoids (Connor et al., 2002; Guo et al., 2003; Wang et al., 1996). Even Proteggente et al. (2002) reported that the highest antioxidant capacity found in fruits such as strawberry, raspberry and red plum is attributable essentially to the higher content in anthocyanins.

3.4. Phenol content

The interaction between harvest time and storage had no significant influence on the phenol content of kiwifruit, but the influence of the two variability factors separately was significant (Fig. 3). Phenols did not change in fruit collected at T1 and stored for 2 months at 0 °C (S1) and during the following week at 25 °C (S1 + 7d). A significant rise was observed in these fruits after the long storage (S2) which further increased after a week at ambient temperature (S2 + 7d). The same pattern was observed at the end of storage in fruits collected at T2 too (Fig. 3). In a study about fresh-cut fruits versus whole fruits during storage, Gil, Aguayo, and Kader (2006) found that during 9 days of storage no significant changes occurred in phenol content in kiwifruits and no difference was determined between slices and whole fruits. Generally, phenol content may either increase or decrease in fruits and vegetables depending on the storage conditions (Kalt, 2005).

3.5. Carotenoid content

In Fig. 4 the carotenoid content at harvest and during storage conditions are shown. The harvest time significantly influenced the carotenoid content: higher values of carotenoids had been recorded in fruits at T1 (Fig. 4). The carotenoid content in T1 and T2 harvested kiwifruit

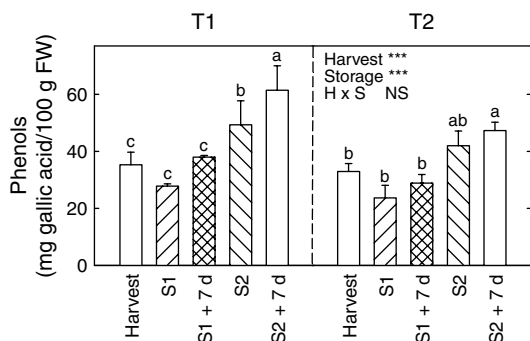


Fig. 3. Total phenol content in kiwifruits harvested in two different times (T1: 17-11-2005, and T2: 24-11-2005) and stored for 2 (S1) and 6 months (S2) at 0 °C. At the end of the two period of cold storage, fruits were maintained for 7 days at 25 °C (S1 + 7d and S2 + 7d). The bars represent the mean of 3 replicates with standard deviation. For the two harvest time T1 and T2, means followed by the same letters are not significantly different for $P=0.05$. In the graph results obtained by the two way ANOVA test with harvest time and storage as variability factors are reported.

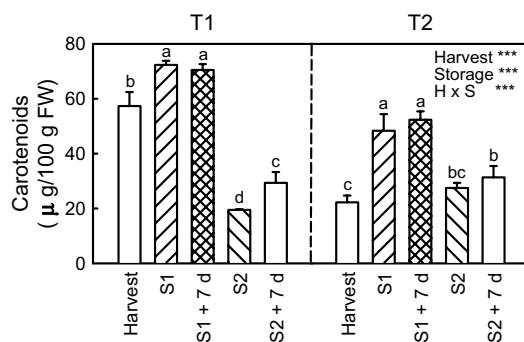


Fig. 4. Total carotenoids in kiwifruits harvested in two different times (T1: 17-11-2005, and T2: 24-11-2005) and stored for 2 (S1) and 6 months (S2) at 0 °C. At the end of the two period of cold storage, fruits were maintained for 7 days at 25 °C (S1 + 7d and S2 + 7d). The bars represent the mean of 3 replicates with standard deviation. For the two harvest time T1 and T2, means followed by the same letters are not significantly different for $P=0.05$. In the graph results obtained by the two way ANOVA test with harvest time and storage as variability factors are reported.

increased after 2 months of cool storage and after a week to ambient temperature (Fig. 4), whereas after 6 months of cool storage, fruits harvested at T1 and T2 showed a significant decrease in carotenoid content. A little increase in carotenoids was observed in fruit collected at T1 and maintained for a week to ambient temperature (S2 + 7d). The obtained results showed that a long storage at 0 °C determined a significant loss of carotenoid content of kiwifruit collected both T1 and T2; then this indicates that harvest time is an important factor able to influence the maintenance of total carotenoids during storage. In fact, kiwifruit harvested at T2 showed lower values at harvest than during storage.

3.6. Correlation between fruit constituents and total antioxidant capacity

To highlight the influence of the phytochemical constituents on antioxidant capacity in kiwifruit, we determined the correlation between the FRAP values and different antioxidant substances (vitamin C, carotenoids and phenols). Also for correlation analysis we considered the two harvest time separately. From the statistical analysis, only one correlation resulted significant and positively correlated (Fig. 5) AA content was positively correlated with the total antioxidant capacity only in fruit collected at T1. This result also agreed with the contribution of AA to total antioxidant capacity, determined in these fruits which corresponded to a value of about 40%. These results suggest that, in kiwifruits, vitamin C contributed to antioxidant capacity much more than others antioxidant constituents, such as phenols or carotenoids. On the other hand, kiwifruit is characterised by a high content of vitamin C and a small amounts of phenolics (Gil et al., 2006).

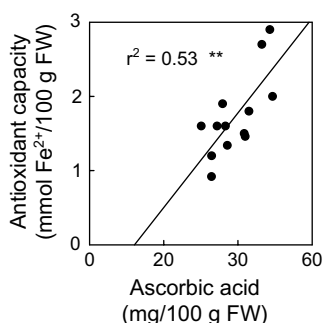


Fig. 5. Linear regression between values of total antioxidant capacity and ascorbic acid content in kiwifruits collected at the time T1 and stored for 2 or 6 months at 0 °C (S1 and S2) and for a week at 25 °C (S1 + 7d and S2 + 7d, respectively). ** $P < 0.01$.

4. Conclusion

The obtained results underline the important role of the pre- and post-harvest factors on the qualitative and nutritional characteristics of kiwifruit. Among the pre-harvest factor, certainly the harvest time influenced organoleptic and nutritional characteristics of kiwifruit. SSC increased in fruit collected at T2 but some nutritional characteristics such as vitamin C and carotenoids were higher in fruits gathered at T1, while harvest time did not induce any change in antioxidant capacity and phenol content.

The cool storage had a different effect in relation to the organic compound considered. In fact, cool storage, and in particular its duration, influenced nutritional characteristics in kiwifruits even if is not possible to identify a unique behaviour for the organic compounds determined here.

Cold storage conditions significantly increased total phenolics and this can be attributed to changes occurring in phenol metabolism during storage, as well as the increase of phenylalanine ammonia lyase (PAL). It is known as PAL has been found to be associated with post-harvest disorders induced after prolonged storage at low-temperature (Martinez-Tellz & Lafuente, 1997).

The most interesting result was the decrease in AA observed in T1 harvested fruits after 6 months of cool storage and this result agrees with the correlation found between the content of this molecule and antioxidant capacity. The temperature upon storage is the most important factor in the post-harvest life of fresh produce because of its dramatic effects on rates of biological reactions (Li & Kader, 1989). Water loss during storage is another important cause of fruit deterioration. In particular, loss of fresh weight (water loss) can also speed up ascorbic acid degradation.

Interestingly, it appears the effect determined by the maintenance of fruits at room temperature after cool storage, which sometimes improved the nutritional characteristics of fruit as well as the phenol and carotenoid content in T1 and T2 harvested fruits and AA only in fruit collected at T2 time. In conclusions, fruits harvested at T2 seem to be more suitable for a long storage (6 months) because reach

nutritional values also higher than those recorded in fruits at the moment of harvest. However, these fruits were also characterised by a reduction in organoleptic characteristics such as flesh firmness, a parameter that can compromise the fruit marketing.

Acknowledgements

The authors are grateful to Azienda “Camillo Pacini e Figli” (Rigoli, Pisa, Italy) for supplying kiwifruit samples.

References

- Ayala-Zavala, J. F., Wang, S. Y., Wang, C. Y., & Gonzales-Aguilar, A. G. (2004). Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 37, 687–695.
- Beever, D. J., & Hopkirik, G. (1990). Fruit development and fruit physiology. In I. J. Warrington & G. C. Weston (Eds.), *Kiwifruits: Science and Management* (pp. 97–126). Auckland: Ray Richards Publisher and NZ Society for Horticultural Science.
- Connor, A. M., Luby, J. J., Hancock, J. F., Berkheimer, S., & Hanson, E. J. (2002). Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during cold-temperature storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 893–898.
- Crisosto, C. H., & Kader, A. A. (1999). Kiwifruit: Post-harvest quality maintenance guidelines. <http://www.uckac.edu/postharv/PDF%20files/Guidelines/kiwi.pdf>.
- Degl'Innocenti, E., Guidi, L., Pardossi, A., & Tognoni, F. (2005). Biochemical study of leaf browning in minimally processed leaves of lettuce. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 9980–9984.
- Dewanto, V., Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3010–3014.
- Esti, M., Messia, M. C., Bertocchi, P., Sinesio, F., Moneta, E., Nicotra, A., et al. (1998). Chemical compounds and sensory assessment of kiwifruit (*Actinidia chinensis* (Plance) var. *chinensis*): Electrochemical and multivariate analyses. *Food Chemistry*, 3, 293–300.
- Fuke, Y., Sasago, K., & Matsuoka, H. (1985). Determination of chlorophylls in kiwifruit and their changes during ripening. *Journal of Food Science*, 50, 1220–1223.
- Gil, M. I., Aguayo, E., & Kader, A. A. (2006). Quality changes and nutrient retention in fresh-cut versus whole fruits during storage. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 54, 4284–4296.
- Guo, A., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., & Jaing, Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruit as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, 23, 1719–1726.
- Halvorsen, B. L., Holte, K., Myhrstad, M. C. W., Barikmo, I., Hvattum, E., Fargetun Remberg, S., et al. (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *Journal of Nutrition*, 132, 461–471.
- Kalt, W. (2005). Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science*, 70, R11–R19.
- Kampfenkel, K., Van Montagu, M., & Inze, D. (1995). Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue. *Analytical Biochemistry*, 225, 165–167.
- Imeh, U., & Khokhar, S. (2002). Distribution of conjugated and free phenols in fruits: Antioxidant activity and cultivar variations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6301–6306.
- Lee, S. K., & Kader, A. A. (2000). Pre-harvest and post-harvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Post-harvest Biology and Technology*, 20, 207–220.
- Li, C., & Kader, A. A. (1989). Residual effects of controlled atmospheres on post-harvest physiology and quality of strawberries. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 114, 629–634.

- Lintas, C., Adorasio, S., Cappelloni, M., & Monastra, E. (1991). Composition and nutritional evaluation of kiwifruit grown in Italy. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 19, 341–344.
- MacRae, E. A., Bowen, J. H., & Stec, M. G. H. (1989). Maturation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*, cv. 'Hayward') from two orchards: Differences in composition of the tissue zones. *Journal of Food Science and Agriculture*, 47, 401–416.
- Marsh, K., Attanayake, S., Walker, S., Gunson, A., Bolding, H., & MacRae, E. (2004). Acidity and taste in kiwifruit. *Post-harvest Biology and Technology*, 32, 159–168.
- Martinez-Tellz, M. A., & Lafuente, M. T. (1997). Effect of high-temperature conditioning on ethylene, phenylalanine ammonia lyase, peroxidase and polyphenol oxidase activities in flavedo of Fortune mandarin fruit. *Journal of Plant Physiology*, 150, 674–678.
- McGlone, V. A., & Kawano, S. (1998). Firmness, dry-matter and soluble solids assessment of post-harvest kiwifruit by NIR spectroscopy. *Post-harvest Biology and Technology*, 13, 131–141.
- Nishiyama, I., Yamashita, Y., Yamanaka, M., Shimohashi, A., Fukuda, T., & Oota, T. (2004). Varietal difference in vitamin C content in the fruit of kiwifruit and other *Actinidia* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 5472–5475.
- Porra, R. J., Thompson, W. A., & Kriedman, P. E. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls *a* and *b* extracted with four different solvents: Verifications of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta*, 975, 384–394.
- Possingham, J. V., Coote, M., & Hawker, S. (1980). The plastids and pigments of fresh and dried Chinese gooseberry (*Actinidia chinensis*). *Annals of Botany*, 45, 529–533.
- Proteggente, A. R., Pannala, A. S., Paganga, G., van Buren, L., Wagner, E., Wiseman, S., et al. (2002). The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Radicals Research*, 36, 217–233.
- Selman, J. D. (1983). The vitamin C content of some kiwifruits (*Actinidia chinensis* Planch, variety 'Hayward'). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 47, 401–416.
- Shivashankara, K. S., Isobe, S., Al-Haq, M. I., Takenaka, M., & Shina, T. (2004). Fruit antioxidant activity, ascorbic acid, total phenol, quercetin, and carotene of Irwin mango fruits stored at low-temperature after high electric field treatment. *Journal of Agricultural of Food Chemistry*, 52, 1281–1286.
- Stec, M. G. H., Hodgson, J. A., MacRae, E. A., & Triggs, C. M. (1989). Role of fruit firmness in the sensory evaluation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv. 'Hayward'). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 47, 417–433.
- Tavarini, S., Degl'Innocenti, E., Pardossi, A., & Guidi, L. (2007). Biochemical aspects in two minimally processed lettuce upon storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 214–219.
- Wang, H., Cao, G., & Prior, R. L. (1996). Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 701–705.
- Wills, R. B. H., & Greenfield, H. (1981). Methodological considerations in producing data for food composition tables. *Food Technology in Australia*, 33, 122–124.

Original article

Preliminary characterisation of peach cultivars for their antioxidant capacitySilvia Tavarini,¹ Elena Degl'Innocenti,¹ Damiano Remorini,² Rossano Massai² & Lucia Guidi^{1*}¹ Dipartimento di Chimica e Biotecnologie Agrarie, University of Pisa, 56124 Pisa, Italy² Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose 'G. Scaramuzzi', University of Pisa, 56124 Pisa, Italy

(Received 14 June 2006; Accepted in revised form 22 November 2006)

Summary Eleven peach cultivars (white- and yellow-flesh peaches, nectarines and canning clingstone peaches) were assayed for their antioxidant capacity and their content of some important organic compounds as well as vitamin C, carotenoids and phenols. Antioxidant capacity, determined by FRAP assay, varied between genotypes. Those with the highest value of Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) were Federica and Springcrest. Antioxidant capacity was correlated to the amount of organic components with significant differences among the cultivars. In some case, antioxidant capacity was related to phenol content, as in yellow-flesh peaches. These results suggest the importance of genotype for determining antioxidant capacity, which, in turn, is related to the organic constituents, such as phenols, vitamin C and carotenoids.

Keywords Antioxidant capacity, ascorbic acid, carotenoids, fruits, peach, phenols.

Introduction

In recent years, food has assumed the status of 'functional food' because it is able to confer not only nutritive value but also physiological and biochemical benefits, such as the prevention and/or treatment of a range of pathologies such as cancer, cardiac disease and also various degenerative diseases (Kaur & Kapoor, 2001; Ferrari & Torres, 2003). Fruits and vegetables are excellent functional foods as they are low in calories but high in antioxidant compounds (Tomas-Barberan & Robins, 1997). These last substances play an important role against diseases induced by oxidative stress, which is responsible for the release of reactive oxygen substances (ROS) in aerobic organisms. It is known that free radicals cause oxidative damage to molecules such as lipids, proteins and nucleic acids (Rice-Evans *et al.*, 1995). Aerobic organisms are exposed to a particular condition with respect to oxygen sometimes referred to as the 'oxygen paradox'. These organisms must necessarily use oxygen for respiration, but, at the same time, they must also protect themselves from the detrimental effects of oxygen and of the free radicals that aerobic metabolism produces (Rice-Evans *et al.*, 1995).

Antioxidant substances play a key role in counteracting oxidative stress in aerobic organisms because they act like 'scavengers'. Fruits and vegetables contain many different antioxidant components; the most important are vitamins, phenols, carotenoids, nitrogenous compounds, minerals and fibre. Phenolic substances such as flavonoids are the most common of these molecules in fruits and vegetables and they have strong antioxidant capacity (Scalzo *et al.*, 2005). In addition, vitamin C is one of the most important nutritional quality factors in horticultural crops and fruits (Lee & Kader, 2000; Proteggente *et al.*, 2002; Szeto *et al.*, 2002) as it protects compounds dissolved in the watery portions of cells and tissues, and it reduces tocopherol radicals back to their active form at the cellular membranes (Kaur & Kapoor, 2001).

The antioxidant capacity of fruits varies in relation to the antioxidant molecules present in the different species (Wang *et al.*, 1996) but variations can also occur within the genotype of a single species (Gil *et al.*, 2002; Cevallos-Casals *et al.*, 2006). In addition, many cultural factors can affect the nutritional composition of vegetables and fruits (Crisosto *et al.*, 1995; Scalzo *et al.*, 2005; Navarro *et al.*, 2006). For example, climatic conditions and pre-harvest cultural practices are responsible for wide variations in vitamin C content of fruits and vegetables at harvest (Weston & Barth, 1997; Lee & Kader, 2000).

*Correspondent: Fax: +39 50 2216630;
e-mail: guidilu@agr.unipi.it

Peaches are an economically important fruit in many countries. Recently, a study of the antioxidant composition of different peach genotypes revealed that phenolic compounds are the major source of potential antioxidants (Gil *et al.*, 2002). Factors other than genotype can also influence the fruit quality in peaches (Zhou *et al.*, 2002; Asami *et al.*, 2003). Even the rootstock can have effects on the nutritional attributes of peach fruit (Giorgi *et al.*, 2005). Breeding programmes on peach have produced new cultivars with an expanded ripening season and with improved fruit quality. Particularly, in Italy in the last 12 years about 250 peach, nectarine and canning clingstone peach cultivars have been evaluated and classified in different recommended lists (Fideghelli & Nicotra, 2002). Although peaches have a relatively minor antioxidant capacity compared with some other fruit types (e.g. strawberry, kiwifruit, orange and apple) (Szeto *et al.*, 2002) their reduced antioxidant capacity is probably offset during the late spring and summer because they are a more important component of the human diet during this period.

The aim of the present work was to identify peach cultivars having the greatest antioxidant capacities in relation to their contents of phenols, carotenoids and vitamin C. Qualitative characteristics such as weight, flesh firmness (FF), soluble solids and titratable acidity (TA) were also evaluated.

Materials and methods

Chemicals

All solvents and reagents were purchased from Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA).

Fruit samples

Fruit samples were from different cultivars of yellow-flesh peaches (Springcrest, Spring Lady, Royal Glory, Redhaven and Glohaven), nectarines (Armking, Crimsongold and Spring Red), canning clingstone peaches (Federica, Romea) and a white-flesh peach (Maria Bianca), grafted on SIRIO rootstock, a clone selected from open pollination of the peach and almond hybrid GF 557. Trials were performed during the summer of 2005, at the experimental farms of the Department of Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose 'G. Scaramuzzi' of the University of Pisa (Italy), on a peach orchard, planted in February 1997, having 4.5×2.5 m tree spacing and trained to free spindle. In all trees, fruits were thinned 4 weeks after full bloom and before Stage II of fruit growth, depending on the size of the trees and the number of long fruiting shoots remaining after winter pruning (one fruit every 15 cm along the bearing shoots). All fruits were randomly harvested inside the canopy at ripening and when FF indicated readiness for consumption.

For each cultivars, thirty fruits were sampled (ten fruits from each of three different plants) and used for the quality and nutritional analysis. On the same days as the harvests, a sample of twenty-one fruits per cultivar (seven from each of three different plants) were immediately used to determine the quality characteristics (FF, soluble solids and TA). The other nine fruits (three from each of three different plants) were used later for nutritional analysis.

Quality parameters

Ten fruits of each genotype were chosen at random and their fresh weight (FW), FF, soluble solids content (SSC) and TA were measured. FF was measured with a digital penetrometer having an 11-mm probe (Model 53205; TR, Forlì, Italy) on a flat surface obtained by removing the skin from two sides of the fruit. The measure was performed on two opposite faces in the equatorial zone. FF was expressed in kilograms. Soluble solids content was measured with a digital refractometer (Model 53011; TR) at the same sites as FF and was expressed as °Brix. The method for analysis of TA was based on neutralisation of the acids present in the fruit-juice with a basic solution (NaOH 0.1 N). Values of TA were expressed as meq NaOH mL⁻¹.

Determination of vitamin C, phenols and carotenoids

For determination of vitamin C, the procedure used was as reported in Degl'Innocenti *et al.* (2005) which was based on that of Kampfenkel *et al.* (1995) for the spectrometric determination of ascorbic acid and vitamin C (dehydroascorbic acid was determined as the difference between vitamin C and ascorbic acid). Analysis was carried out on 0.4–0.8 g samples. Vitamin C content was expressed as mg per 100 g FW.

For analysis of phenolic compounds, a 4 g sample of fruit pulp was homogenised with 10 mL of HPLC grade methanol, and the homogenates were filtered and centrifuged at $15\,000 \times g$ at 20 °C for 15 min. The content of phenols in the extract was determined according to the method reported by Dewanto *et al.* (2002) based on the method of Folin-Ciocalteu. The values were expressed as mg gallic acid (GA) per 100 g FW.

The carotenoid content was determined on an 80% acetone extract at a $\lambda = 470$ nm. The pigment concentrations were expressed in µg per 100 g FW (Porra *et al.*, 1989).

Antioxidant capacity evaluation

The method used to test the antioxidant capacity of the extracts of peach-fruits measured the iron-reducing capacity of a pool of antioxidant substances (FRAP)

(Benzie & Strain, 1996), being this assay quick and simple to perform and linearly related to molar concentration of antioxidant(s) present. The assay was carried out on 4 g samples of fruit pulp homogenised with 10 mL of HPLC grade methanol; the homogenates were filtered and centrifuged at $15\,000 \times g$ at $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 15 min. The FRAP reagent contains 1 mM 2,4,6-tripyridyl-2-triazine and 2 mM ferric chloride in 70.25 M sodium acetate (pH 3.6). The Fe^{2+} forms a complex with 2,2'-dipyridyl. An intense blue is formed when the ferric-tripyridyltriazine (Fe^{3+} -TPZ) complex is reduced to the ferrous form at 593 nm. The final value of FRAP content was expressed as mol Fe^{2+} per 100 g FW.

Statistical analyses

Data are the means of different numbers of replicates depending on the analysis. Each replicate represents a single fruit. Data were subjected to one-way ANOVA with genotype as the variability factor. Comparison between the means was carried out using a least significant difference test at $P = 0.05$. Regression analysis was determined between antioxidant capacity and different organic compounds in yellow-flesh peach fruits.

Results

Fruit ripening stage

All fruits used in this research were ripened to a ready-to-eat condition. FF and other quality indices are reported in Table 1. The quality characteristics varied significantly between peach cultivars.

The highest FW values were recorded in Maria Bianca and Redhaven while the lowest were in Armking. FF and SSC also varied significantly amongst genotypes. SSC varied between 10.4° (in Spring Lady and Armking)

and 15.4° Brix (in Federica). Spring Red cv. produced fruits with the highest TA, while Spring Lady had the lowest TA. Taste is related to SSC and to TA with the ratio between them being most important. It has been suggested (Deshpande & Salunkhe, 1964) that the ratio SSC/TA indicates the ripening of fresh fruits and this varies widely between cultivars (Kader *et al.*, 1982). Royal Glory and Federica had the highest SSC/TA ratio: in Royal Glory this was predominantly due to a low TA value whereas in Federica it was due to a high SSC (Table. 1).

Antioxidant capacity

Antioxidant capacity and the content of organic compounds were determined in ripe fruit to evaluate the dietary impact of fruit consumption and the ingested antioxidant equivalent. Antioxidant capacity varied amongst genotypes (Fig. 1). Those with the highest FRAP values were Federica and Springcrest, while those with intermediate values were Crimsongold and Spring Red. The lowest antioxidant capacities were recorded in Romea and Royal Glory.

Phenols and ascorbic acid

The amounts of phenols fell within the range reported in the literature for peach fruits, namely 42–77 mg GA per 100 g FW (Chang *et al.*, 2000; Prolegente *et al.*, 2002). In our case, the content of phenols ranged between 14 and 50 mg GA per 100 g FW with significantly higher values recorded in Royal Glory and Federica. The lowest contents were in Spring Lady, Redhaven, Armking, Crimsongold, Sprinred and Romea (Fig. 2).

The vitamin C content showed values in the range of 1–3 mg ASA_{tot} ($\text{ASA} + \text{DHA}$) per 100 g FW for many cultivars and higher values (between 9 and 14 mg

Table 1 Quality indices and ripening parameters of different peach cultivars at harvest

| Cultivar | Weight (g) | Flesh firmness (kg) | SSC ($^{\circ}\text{Brix}$) | Titrateable acidity (meq NaOH mL^{-1}) | SSC/titrateable acidity |
|--------------|----------------------|---------------------|-------------------------------|--|-------------------------|
| Springcrest | 136.4 ± 35.42 ef | 3.6 ± 0.24 a | 10.9 ± 1.19 ef | NA | NA |
| Spring Lady | 114.8 ± 12.91 fg | 1.7 ± 0.42 e | 10.4 ± 0.99 f | 1.4 ± 0.50 d | 7.4 ± 2.02 de |
| Royal Glory | 163.3 ± 22.13 cd | 3.4 ± 0.79 ab | 12.1 ± 2.12 de | 0.6 ± 0.09 g | 17.3 ± 2.35 a |
| Redhaven | 235.4 ± 16.35 a | 2.1 ± 1.29 de | 11.7 ± 1.28 def | 1.6 ± 0.01 c | 7.7 ± 0.05 cde |
| Glohaven | 190.1 ± 25.55 b | 1.7 ± 1.04 e | 12.6 ± 1.44 cd | 1.1 ± 0.11 e | 10.2 ± 0.83 b |
| Maria Bianca | 213.3 ± 32.92 a | 2.5 ± 1.07 cd | 12.9 ± 0.83 bcd | 1.6 ± 0.18 c | 8.3 ± 0.90 cd |
| Armking | 111.3 ± 20.00 g | 1.6 ± 0.86 e | 10.4 ± 2.00 f | 2.0 ± 0.25 b | 4.5 ± 0.78 f |
| Spring Red | 148.3 ± 18.61 ef | 3.7 ± 0.77 a | 13.8 ± 1.76 bc | 2.6 ± 0.22 a | 6.1 ± 0.94 ef |
| Crimsongold | 142.4 ± 12.50 ef | 2.6 ± 1.00 bcd | 14.2 ± 1.33 ab | 2.1 ± 0.26 b | 6.7 ± 0.78 de |
| Federica | 161.3 ± 29.52 cd | 2.3 ± 0.35 cde | 15.4 ± 2.99 a | 0.9 ± 0.01 f | 18.8 ± 0.17 a |
| Romea | 183.3 ± 35.16 bc | 1.6 ± 0.63 e | 12.2 ± 1.12 de | 1.4 ± 0.06 d | 9.4 ± 0.54 bc |

Each value represents the mean of ten replicates \pm one SD. Mean values followed by the same letters are not significantly different for $P = 0.05$ following a one-way ANOVA test. NA = not available.

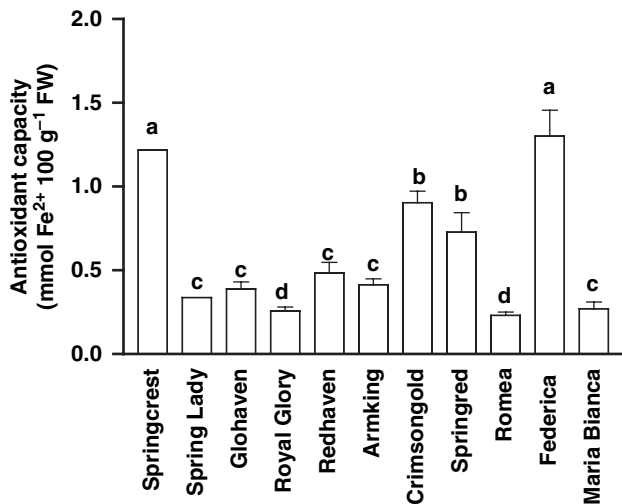


Figure 1 Antioxidant capacity determined using FRAP assay of fruits of eleven cultivars of peaches. Each value is the mean of three replicates. Bars indicate standard deviations. Means with the same letter are not significantly different for $P = 0.05$ following a one-way ANOVA test.

ASA_{tot} per 100 g FW) in Glohaven, Redhaven, Federica and Maria Bianca (Fig. 3).

Carotenoids

As expected, the lowest carotenoid content was found in Maria Bianca which is typically a white-flesh cultivar

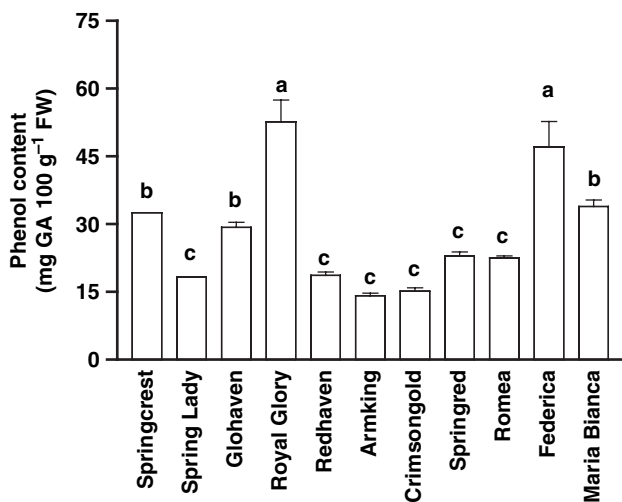


Figure 2 Phenolic contents determined using the Folin–Ciocalteu assay of fruits of eleven cultivars of peaches. Each value is the mean of three replicates. Bars indicate standard deviations. Means with the same letter are not significantly different for $P = 0.05$ following a one-way ANOVA test.

(Fig. 4). The other genotypes showed a variable carotenoid amount with the highest value recorded in Glohaven cultivar.

Correlation between antioxidant capacity and fruit constituents

The evaluation of the contribution of total phenols, vitamin C and carotenoids to antioxidant capacity was evaluated only in yellow-flesh peach fruits; indeed, only for this cultivar Group there was a statistically representative number of cultivars. Phenols are the only organic compounds that correlate significantly with antioxidant capacity in yellow-flesh peaches ($r = 0.72$; $P > 0.01$) (Fig. 5). No correlation was found between vitamin C or carotenoids and antioxidant capacity for this cultivar group.

Discussion

The quality indices of the peach cultivars including FF, SSC and TA identified the fruits used in this study as ripe and ready-to-eat peaches. FF ranged from soft fruits (1.6 kg; Romea and Armking) to firm (3.7 kg; Spring Red) while SSC varied from 10.4 (Spring Lady and Armking) to 15.4°Brix (Federica). TA changed widely among peach cultivars from 2.6 (Spring Red) to 0.6 meq NaOH mL⁻¹ (Royal Glory). This wide variability in the quality indices among the studied cultivars indicates their diverse genetic origins.

This genetic diversity is reflected also in their antioxidant capacity. In fact, the results show that genotype

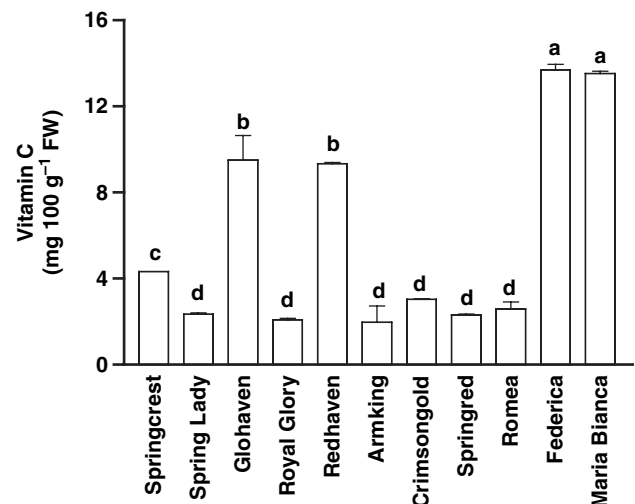


Figure 3 Vitamin C contents of fruits of eleven cultivars of peaches. Each value is the mean of three replicates. Bars indicate standard deviations. Means with the same letter are not significantly different for $P = 0.05$ following a one-way ANOVA test.

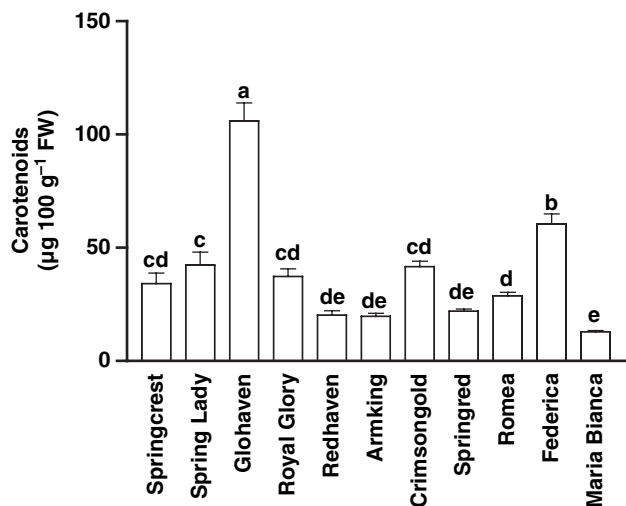


Figure 4 Carotenoid contents of fruits of eleven cultivars of peaches. Each value is the mean of three replicates. Bars indicate standard deviations. Means with the same letter are not significantly different for $P = 0.05$ following a one-way ANOVA test.

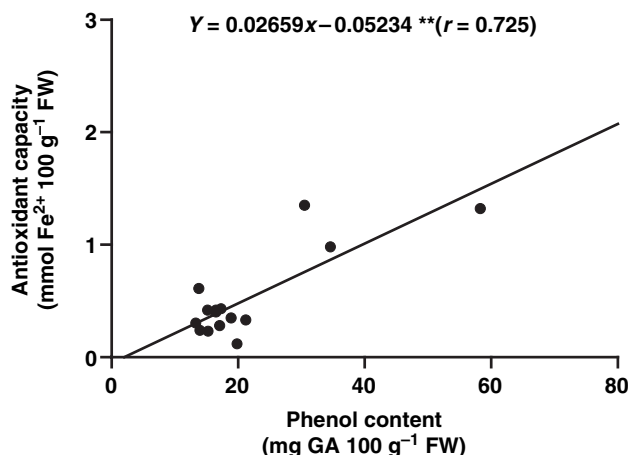


Figure 5 Linear regression between antioxidant capacity evaluated by FRAP and total phenols in yellow-flesh peach fruits. **: $P < 0.01$.

plays a key role in determining antioxidant capacity in peach fruits. Among the peach cultivars studied, Federica (a canning clingstone peach) with Springcrest (yellow-flesh peach) showed the highest antioxidant capacity values. From obtained results, it is not possible to define a clear trend in terms of antioxidant capacity among the different cultivar Group. As reported by Gil *et al.* (2002), the antioxidant capacity is more related to individual cultivar rather than a Group cultivar. It is known that fruits possess different antioxidant properties depending on their content of antioxidant molecules, as recently shown by studies demonstrating, for

example, that strawberries have greater antioxidant capacity (two to eleven fold) than apple, peach, pear, grape, tomato, orange or kiwifruit (Wang *et al.*, 1996; Halvorsen *et al.*, 2002). The results confirm that the antioxidant capacity of fruits is closely related to their organic constituents. The high value of FRAP assay in Federica is associated with high levels of phenolic compounds, in vitamin C and, partially, also in carotenoids. A different situation obtained in Springcrest, in which only the phenols seem to contribute to the high antioxidant capacity; indeed, in this cultivar, the high antioxidant capacity is not associated with a high vitamin C or carotenoid content. As already reported, these organic components, and particularly vitamin C and phenols, may play a protective role in human health because of their high antioxidant capacity (Ziegler, 1991; Gandini *et al.*, 2000). However, in Springcrest, the phenolic content was significantly lower than in the other yellow-flesh peach cultivars, as for example Royal Glory. This indicates that it is not only the total content of phenols but also their chemical structure that is important in determining antioxidant capacity. It is indeed reported that the antioxidant capacity of phenols is generally governed by their chemical structures, with their capacity increasing with the number of hydroxyl groups (Leontowicz *et al.*, 2002). Proteggente *et al.* (2002) reported that the highest antioxidant capacity is found in fruits rich in anthocyanins, such as strawberry, raspberry and red plum, followed by those rich in flavanones (orange and grapefruit) or flavanols. In research carried out on twenty-eight different fruits, Garcia-Alonso *et al.* (2004) concluded that antioxidant activities cannot only be attributed to the flavanol content but also to the action of different antioxidant compounds.

Although the correlation between organic compounds and antioxidant capacity was significant only for phenols in yellow-flesh peach fruits, useful information derived from the comparison between the content in nutritional compounds and antioxidant capacity. Indeed, the cultivar Romea, which showed the lower value in the FRAP assay contained also lower amounts of vitamin C, carotenoids and phenolic compounds, whereas Federica, which had the highest FRAP value, contained the highest vitamin C and phenol contents. These results show that in the range of available peach cultivars, substantial differences occur in the amounts of antioxidant compounds. It is worth noting that, peaches can usefully be included in the range of fruits chosen by consumers to improve their daily consumption of healthy phytochemicals.

Data obtained in this study confirm a genetic variation among different fruit cultivars in their antioxidant capacity, which is linked to their chemical composition. In addition, the importance of genotype in determining the amount of any particular

nutritional component present in the fruit. Therefore, the chemical composition of plant foods is affected by several factors, such as agronomic practices, pre- and post-harvest conditions and processing. For example, Scalzo *et al.* (2005) found differences in peach fruits of Suncrest grafted from different rootstocks. All these parameters may have significant roles in determining nutraceutical composition and the bioactivity of the organic compounds involved. Thus, the content of these key phytochemical substances should perhaps become a more important quality parameter to be used in the selection of new varieties in breeding programmes.

References

- Asami, D.K., Hong, Y.-J., Barret, D.M. & Mitchell, A.E. (2003). Processing-induced changes in total phenolics and procyanidins in clingstone peaches. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **83**, 56–63.
- Benzie, I.F.F. & Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, **239**, 70–76.
- Cevallos-Casals, B.A., Byrne, D., Okie, W.R. & Cisneros-Zevallos, L. (2006). Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compounds and enhanced functional properties. *Food Chemistry*, **96**, 273–280.
- Chang, S., Tan, C., Frankel, E.N. & Barret, D.M. (2000). Low-density lipoprotein antioxidant activity of phenolic compounds and polyphenols oxidase activity in selected canning clingstone peach cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 147–151.
- Crisosto, C.H., Mitchell, F.G. & Johnson, S. (1995). Factors in fresh market stone fruit quality. *Postharvest News and Information*, **6**, 17N–21N.
- Degl'Innocenti, E., Guidi, L., Pardossi, A. & Tognoni, F. (2005). Biochemical study of leaf browning in minimally processed leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *acephala*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 9980–9984.
- Deshpande, P.B. & Salunkhe, D.K. (1964). Effect of maturity and storage on certain biochemical changes in apricots and peaches. *Food Technology*, **18**, 85–88.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K. & Liu, R.H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 3010–3014.
- Ferrari, C.K.B. & Torres, E.A.F.S. (2003). Biochemical pharmacology of functional foods and prevention of chronic disease of aging. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, **57**, 251–260.
- Fideghelli, C. & Nicotra, A. (2002). The Italian peach cultivar and rootstock trial. *Acta Horticulturae*, **592**, 331–334.
- Gandini, S., Merzenich, H., Robertson, C. & Boyle, P. (2000). Met-analysis of study on breast cancer risk and diet: the associated micronutrient. *European Journal of Cancer*, **36**, 636–646.
- Garcia-Alonso, M., de Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C. & Rivas-Gonzalo, J.C. (2004). Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry*, **84**, 13–18.
- Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B. & Kader, A.A. (2002). Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids and vitamin C contents of nectarine, peach and plum cultivars from California. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 4976–4982.
- Giorgi, M., Capocasa, F., Scalzo, J., Murri, G., Battino, M. & Mezzetti, B. (2005). The rootstock effects on plant adaptability, production, fruit quality, and nutrition in the peach (cv. 'Suncrest'). *Scientia Horticulturae*, **107**, 36–42.
- Halvorsen, B.L., Holte, K., Myhrstad, M.C.W., et al. (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *Journal of Nutrition*, **132**, 461–471.
- Kader, A.A., Heintz, C.M. & Chordas, A. (1982). Postharvest of fresh and canned clingstone peaches as influenced by genotype and maturity at harvest. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **107**, 947–951.
- Kampfenkel, K., Van Montagu, M. & Inzé, D. (1995). Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue. *Analytical Biochemistry*, **225**, 165–167.
- Kaur, C. & Kapoor, H.C. (2001). Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*, **36**, 703–725.
- Lee, S.K. & Kader, A.A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, **20**, 207–220.
- Leontowicz, H., Gorinstein, S., Lojek, A., et al. (2002). Comparative content of some bioactive compounds in apples, peaches and pears and their influence on lipids and antioxidant capacity in rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **13**, 603–610.
- Navarro, J.M., Flores, P., Garrido, C. & Martinez, V. (2006). Changes in the content of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stage, as affected by salinity. *Food Chemistry*, **96**, 66–73.
- Porra, R.J., Thompson, W.A. & Kriedman, P.E. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls *a* and *b* extracted with four different solvents: verifications of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta*, **975**, 384–394.
- Proteggente, A.R., Pannala, A.S., Paganga, G., et al. (2002). The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolics and vitamin C composition. *Free Radical Research*, **36**, 217–233.
- Rice-Evans, C.A., Halliwell, B. & Lunt, G.G. (1995). *Free Radicals and Oxidative Stress: Environment, Drugs and Food Additives*. Pp. 1–276. London: Portland Press.
- Scalzo, J., Politi, A., Pellegrini, N., Mezzetti, B. & Battino, M. (2005). Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, **21**, 207–213.
- Szeto, Y.T., Tomlinson, B. & Benzie, I.F.F. (2002). Total antioxidant and ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables: implications for dietary planning and food preservation. *The British Journal of Nutrition*, **87**, 55–59.
- Tomas-Barberan, F.A. & Robins, R.J. (1997). *Phytochemistry of Fruit and Vegetables*. Pp. 1–398. New York, NY: Oxford University Press.
- Wang, H., Cao, G. & Prior, R.L. (1996). Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **44**, 701–705.
- Weston, L.A. & Barth, M.M. (1997). Preharvest factors affecting postharvest quality of vegetables. *HortScience*, **32**, 812–816.
- Zhou, T., Xu, S., Sun, D.-W. & Wang, Z. (2002). Effects of heat treatment on postharvest quality of peaches. *Journal of Food Engineering*, **54**, 17–22.
- Ziegler, R.G. (1991). Vegetables, fruits and carotenoids and the risk of cancer. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **53**, 251S–259S.



Effect of rootstocks and harvesting time on the nutritional quality of peel and flesh of peach fruits

D. Remorini^a, S. Tavarini^b, E. Degl'Innocenti^b, F. Loreti^a, R. Massai^a, L. Guidi^{b,*}

^a *Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose "G. Scaramuzzi", University of Pisa, Italy*

^b *Dipartimento di Chimica e Biotecnologie Agrarie, University of Pisa, Pisa, Italy*

Received 29 October 2007; received in revised form 28 November 2007; accepted 7 February 2008

Abstract

The influence was evaluated of four rootstocks (Ishtara, Mr. S 2/5, GF 677 and Barrier 1) and of harvesting time (early, middle, late) on the quality characteristics and nutritional value (vitamin C, phenols, carotenoids, total antioxidant capacity) of 'Flavorcrest' peach. The better rootstocks were Mr. S 2/5 (low-vigour) and Barrier 1 (high-vigour). In particular, Flavorcrest fruit on Mr. S 2/5 and on Barrier 1 rootstocks had higher antioxidant capacities and also higher phytochemical content, although fruits on Mr. S 2/5 were less firm.

Flesh firmness was best for fruits at mid-harvest (H2, 7 July 2006), whereas phytochemical contents were best at late harvest (H3, 13 July 2006), when, for all rootstocks, the best nutritional characteristics were also recorded. Total antioxidant capacity and phytochemical content were determined for the peel and flesh. The results show that removal of peel from peach results in a significant loss of total antioxidant capacity.

© 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Carotenoids; Flesh; Harvesting time; Peach; Peel; Rootstock; Total antioxidant capacity; Vitamin C

1. Introduction

Stone fruits play an important role in human health due to the range of phenolic compounds and carotenoids they contain. Peaches, even though having a total antioxidant capacity (TAC) lower than some other fruits, such as strawberry, kiwifruit, apple, orange (Szeto, Tomlinson, & Benzie, 2002), are economically and nutritionally important because they can form a significant component of the diet during the spring and summer months because serving sizes are often larger (mass consumed per person, per day). Phenolic compounds represent the major sources of antioxidant capacity in peaches (Chang, Tan, Frankel, & Barrett, 2000); vitamin C and carotenoids also contribute to antioxidant activity (Gil, Tomas-Barberan, Hess-Pierce, & Kader, 2002).

The phytochemical content of fruit tissues is influenced by numerous pre-harvest factors, including genotype, rootstock, climatic conditions, agronomic practices and harvesting time, but also by post-harvest factors, including storage conditions and processing procedures (Cevallos-Casals, Byrne, Okie, & Cisneros-Zevallos, 2006; Gil et al., 2002; Lee & Kader, 2000; Tavarini, Degl'Innocenti, Remorini, Massai, & Guidi L., in press). Key to the commercial expansion of peach production is the promotion and maintenance of the highest possible standards of fruit quality. This involves the accurate evaluation of genotype and rootstock responses to growth conditions and management, and the identification of their best combinations (Giorgi et al., 2005). In a recent study, we showed that peach genotype plays an important role in determining total antioxidant capacity in peach fruits (Tavarini et al., in press). Moreover, Gil et al. (2002), in a study of antioxidant composition in a range of peach cultivars, showed that phenolic compounds were the main source of antioxidants. Certainly, also the rootstock is a very important

* Corresponding author.

E-mail address: guidilu@agr.unipi.it (L. Guidi).

factor in determining fruit quality. For example, it is known that dwarf rootstocks are able to direct more nutrients to the fruit because less competition for nutrients is provided by vegetative growth (Chalmers, Mitchell, & Van Heek, 1981). Also Giorgi et al. (2005) reported that rootstock has a significant role in determining the nutritional attributes of peaches.

In peach, the time of harvest influences total antioxidant capacity particularly strongly as during ripening a large number of biochemical, physiological and structural changes takes place. These include changes in background colour, sugar storage, decreases in organic acids, development of volatile and aromatic substances, fruit softening, increases in nutritional and healthful compounds, and, taken together, these determine fruit quality. Meanwhile, to ensure maximum resistance to mechanical damage and good shelf life, fruits are usually harvested well before physiological ripening, and at a stage characterised by high flesh firmness. For these reasons, it is difficult to identify a harvesting time that represents a best compromise between optimal quality and nutritional attributes on the one hand and good resistance to handling damage and shelf life on the other.

The peel of fruits and vegetables is commonly rejected because it is thought to be indigestible or possibly contaminated by sprays or by human disease agents. However, it has been reported that apple peels contain a higher amount of phenolic compounds and antioxidant activity (Wolfe, Wu, & Liu, 2003). Meanwhile, tomato skins contain high levels of lycopene, compared to the pulp and the seeds (Al-Wandawi, Abdul-Rahman, & Al-Shaikhly, 1985; Toor & Savage, 2005). This is true for peach too, where it has been reported that the peel contains higher amounts of phenols (Tomas-Barberan et al., 2001), carotenoids and total ascorbic acid than the flesh (Gil et al., 2002) on mass-per-mass basis.

Our objective was to evaluate different rootstocks grafted to Flavorcrest peach scions and different harvesting times on some phytochemical compounds and on the total antioxidant capacity in the peel and flesh fractions of the fruits. Determining the relationship between rootstock and harvesting time and levels of antioxidant compounds in fruits is essential, if we are to understand how to maximise levels of beneficial bioactive compounds in fresh fruits.

2. Materials and methods

2.1. Plant material

The peach rootstocks GF 677 (*Prunus persica* × *Prunus amygdalus*), Barrier 1 (*P. persica* × *Prunus davidiana*), Ishtara [(*Prunus cerasifera* × *P. salicina*) × (*P. cerasifera* × *P. persica*)] and Mr. S 2/5 (natural hybrid of *P. cerasifera*) were grafted to scions of 'Flavorcrest', a common yellow-pulp peach cultivar. The rootstocks GF 677 and Barrier 1 are considered 'high-vigour', while Mr. S 2/5 and Ishtara are considered 'low-vigour'. Trials were performed during

2006 at the experimental farm of the Department of Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose "G. Scaramuzzi" of the University of Pisa (Italy), on a peach orchard, cv. 'Flavorcrest', planted in February 2000, having 4.5 × 2.5 m tree spacings and trained to a free spindle. A total of 50 trees were grafted onto each of GF 677, Barrier 1, Mr. S 2/5 and Ishtara rootstocks. In all trees, fruits were thinned 4 weeks after full bloom and before Stage II of fruit growth. Intensity of thinning depended on the size of the trees and on the number of long fruiting shoots remaining after winter pruning (one fruit every 15 cm along the bearing shoots). Conventional commercial irrigation and summer pruning treatments were performed. Fruits were selected for harvest that had been exposed to a 50–70% global solar irradiation, and 20 fruits were picked at three different times: early, 30 June 2006 (H1), middle, 7 July 2006 (H2) and late, 13 July 2006 (H3). The H2 time corresponded to the standard commercial stage for Flavorcrest cultivar. The evaluation of qualitative parameters (fresh weight, flesh firmness, soluble solids content, titratable acidity and skin over colour) was conducted on whole fruits. The nutritional characteristics (total antioxidant capacity, phenols, carotenoids) were determined at the same harvesting time in the same fruits used for quality characteristics, but in two different fractions – peel and flesh. At H1 and H3, vitamin C content was also determined in the two fractions. Fruits were peeled with a sharp knife, peel and flesh were frozen separately in liquid nitrogen, and kept at –80 °C until analysed.

2.2. Quality parameters

Flesh firmness (FF) was measured with a digital penetrometer having an 8-mm probe (Model 53205, TR, Forlì, Italy) on a flat surface, by removing the skin from two sides of the fruit. The measure was performed on two opposite faces in the equatorial zone. Flesh firmness was expressed in kg. Soluble solids content (SSC) was measured with a digital refractometer (Model 53011, TR) at the same sites as FF and was expressed as °Brix. The method for analysis of titratable acidity was based on neutralisation of the acids present in the fruit juice with a basic solution (NaOH 0.1 N). Values of titratable acidity were expressed as meq NaOH/100 mL.

The fruit colour was evaluated by visual assessment and expressed as percentage of skin surface covered by red pigment.

2.3. Total antioxidant capacity evaluation

To determine the total antioxidant capacity, the FRAP (Ferric-reducing antioxidant power) assay was used. The method measures the iron-reducing capacity of antioxidant substances in the extract of the two fractions. The procedure used was reported in Tavarini, Degl'Innocenti, Pardossi and Guidi (2007). The final value of total antioxidant

capacity was expressed as mmol Fe²⁺/100 g fresh weight (FW).

2.4. Determination of vitamin C

Procedures used were as described by Degl'Innocenti, Guidi, Pardossi and Tognoni (2005), based on the method of Kampfenkel, Van Montagu, and Inzè (1995) for the spectrophotometric determination of ascorbic acid (vitamin C). Vitamin C was expressed as mg/100 g FW.

2.5. Determination of phenols

Total phenols were analysed using the method suggested by Dewanto, Wu, Adom, and Liu (2002), based on Folin-Ciocalteu assay and expressed as mg gallic acid/100 g FW.

2.6. Determination of β -carotene

Procedures used were as described by Reyes, Villarreal, and Cisneros-Zevallos (2007). Absorbance was determined at 470 nm in 1-cm quartz cuvettes of extracts in acetone:ethanol (1:1). Carotenoids were quantified as β -carotene using a standard curve.

2.7. Statistical analysis

Data were subjected to two way analysis of variance, to determine the significance of differences between treatments – namely, harvesting time and rootstocks. Least significant difference at the 5% level was calculated to compare differences among means. Linear regression analysis was carried out for total antioxidant capacity and phytochemicals.

3. Results and discussion

3.1. Quality indices

Fresh weight increased significantly during fruit ripening while still on the plant (Table 1), while flesh firmness decreased significantly with time of harvest, reaching optimal values (in the range 5–6 kg) by H2 (mean 5.60 kg) (Table 1). These firmness values also represent the optimal for a long storage of peach. At H1 differences among FF values were dependent on rootstock while at H2 and at H3 the rootstock influence was not significant.

Soluble solids content reached the highest values at H3 in fruits on rootstocks Ishtara, Mr. S 2/5 and Barrier 1, while on GF 677 no changes were recorded for the three harvesting times (Table 1).

Titrateable acidity (TA) diminished in fruits on all rootstocks at different harvesting time (Table 1). In particular, the reduction of TA was evident in fruit on rootstocks Ishtara and Mr. S 2/5, the ratio SSC/TA being higher than one.

In Table 1 the skin over colour (OC) of fruits on different rootstocks is reported also. The higher values of OC

Table 1

Fresh weight (FW), flesh firmness (FF), soluble solids content (SSC), titrateable acidity (TA) and skin over colour (OC) in peaches of Flavorcrest harvested at three different times [30 June (H1), 7 July (H2) and 13 July (H3)] and grafted on four different rootstocks (Ishtara, Mr. S 2/5, GF 677 and Barrier 1)

| | | H1 | H2 | H3 |
|-----------------|-----------|---------|---------|---------|
| FW (g) | Ishtara | 128.0de | 168.5bc | 198.2a |
| | Mr. S 2/5 | 107.3f | 143.4d | 169.6bc |
| | GF677 | 128.1e | 163.6c | 184.4ab |
| | Barrier 1 | 115.7ef | 164.0c | 186.3ab |
| FF (kg) | Ishtara | 5.6cd | 4.4ef | 2.4g |
| | Mr. S 2/5 | 7.0b | 4.9de | 2.4g |
| | GF677 | 6.0c | 4.5ef | 2.5g |
| | Barrier 1 | 8.3a | 5.9cd | 3.1fg |
| SSC (°Brix) | Ishtara | 10.5b | 10.6bc | 11.7a |
| | Mr. S 2/5 | 10.5b | 10.8b | 11.5ab |
| | GF677 | 10.0c | 10.2c | 10.3bc |
| | Barrier 1 | 9.8c | 10.3c | 12.0a |
| TA (meq/100 mL) | Ishtara | 13.0c | 12.1d | 9.1f |
| | Mr. S 2/5 | 13.3c | 11.5de | 10.5e |
| | GF677 | 14.6b | 13.4c | 12.0d |
| | Barrier 1 | 16.7a | 14.7b | 12.4cd |
| OC (%) | Ishtara | 60.0c | 70.3b | 80.7a |
| | Mr. S 2/5 | 53.7d | 61.3bc | 76.9a |
| | GF677 | 57.7cd | 66.0b | 70.4b |
| | Barrier 1 | 27.3e | 50.7d | 69.3b |

Each value represents the mean of 20 replicates. Means followed by the same letters are not significantly different for $p=0.05$ in a two way ANOVA test with harvest time and rootstock as variability factors.

were reached in fruits on weakest rootstocks (Ishtara and Mr. S 2/5), probably because these rootstocks received the highest sunlight level inside the canopy. Fruits on rootstock Barrier 1 showed a slow ripening, as evidenced by the higher FF and TA and lowest SSC and OC at the first and second harvesting time (H1 and H2).

3.2. Total antioxidant capacity

The total antioxidant capacity was measured in flesh (Fig. 1A) and peel (Fig. 1B). The range of values of total antioxidant capacity found in the two fruit fractions was similar. FRAP values increased in a significant way in flesh and peel of fruits collected at H3 only in Mr. S 2/5 and Barrier 1 (Fig. 1A and B). These results showed the importance of both rootstock and harvesting time on the nutritional characteristics. Bielicki, Czynczyk, and Chlebowska (2000) and Chun and Fallahi (2001) reported that rootstocks influenced yield and also quality in apples. There are not many reports which deal with the influence of rootstock on nutritional and antioxidant properties of fruit. Our results showed that Mr. S 2/5 produced fruits having highest total antioxidant capacity at the third harvest, probably because of its low-vigour properties. Ishtara, another dwarfing rootstock, showed lower values of total antioxidant capacity at H1 and H3 compared with Mr. S 2/5. Also, on Barrier 1 (high-vigour) FRAP values were higher than on Ishtara at H2 and H3. From our results,

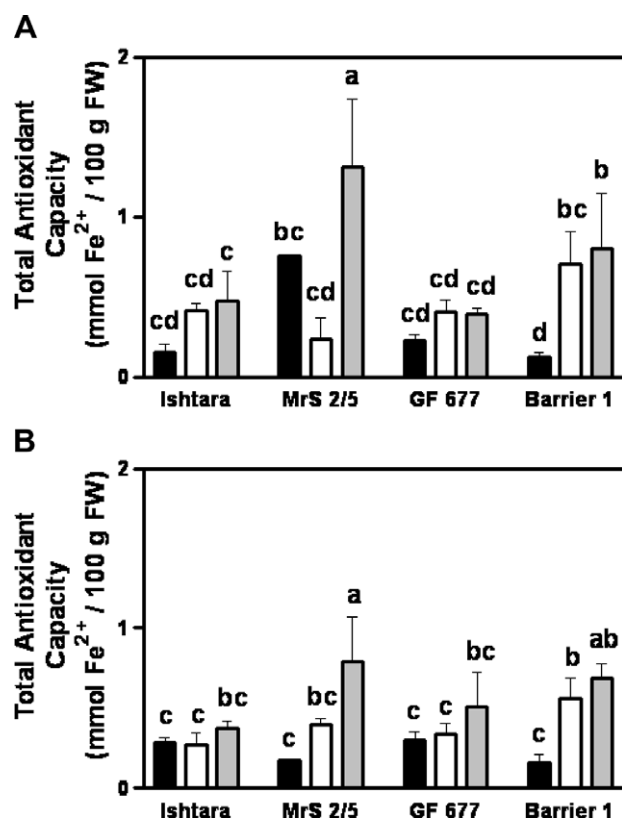


Fig. 1. Total antioxidant capacity determined by FRAP assay in flesh (A) and peel (B) of peach fruits, cv. Flavorcrest, grafted on four rootstocks (Ishtara, Mr. S 2/5, GF 677 and Barrier 1) and harvested at three different times [30 June (black bar), 7 July (white bar) and 13 July (grey bar)]. Values are the means of four replicates and the standard deviation is also shown. Means followed by the same letters are not significantly different ($p = 0.05$).

it is not possible to discern a link between rootstock vigour and total antioxidant capacity.

Harvesting time influenced total antioxidant capacity of Flavorcrest fruits on the four different rootstocks in a similar way. In both flesh and peel fractions the FRAP values were higher at H3 than at the two earlier harvests H1 and H2. These results indicate that the maturity of peach fruits at harvest is an important factor in determining their nutritional quality, so the choice of the harvesting time is important. Harvesting time must take into account these parameters, along with the quality characteristics essential for post-harvest technology but also for consumer acceptance. The middle and the late harvest times, H2 and H3, seem best in respect of both the quality and nutritional criteria.

3.3. Total phenols

The phenol content in the peel was two times higher than in the flesh (Fig. 2). Flesh phenols decreased during ripening on the tree so that the highest values were found at H1, except for trees on Barrier 1 (Fig. 2A). The decrease of flesh phenol content can be attributed to a series of

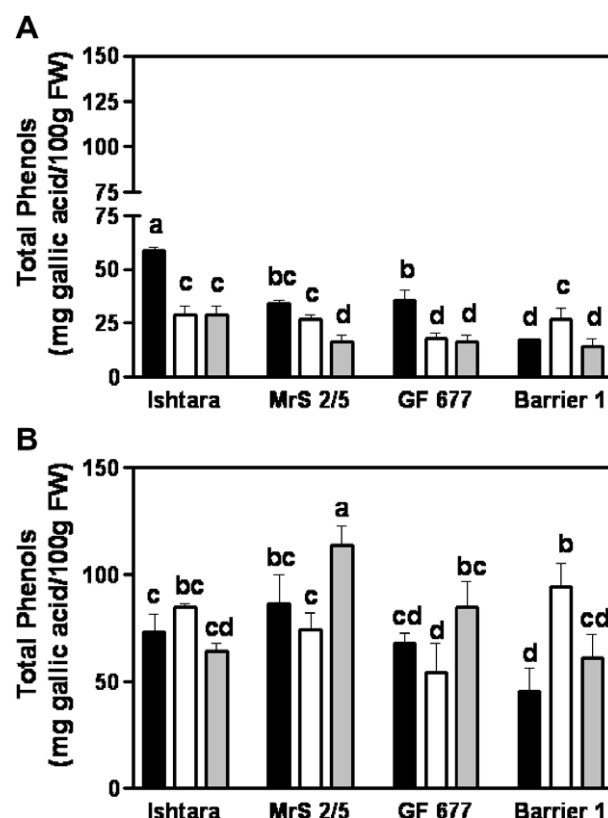


Fig. 2. Total phenols content determined in flesh (A) and peel (B) of peach fruits, cv. Flavorcrest, grafted on four different rootstocks (Ishtara, Mr. S 2/5, GF 677 and Barrier 1) and harvested at three different times [30 June (black bar), 7 July (white bar) and 13 July (grey bar)]. Values are the means of four replicates and the standard deviation is also shown. Means followed by the same letters are not significantly different ($p = 0.05$).

chemical and enzymatic alterations of some of the phenols during ripening. These include hydrolysis of glycosides by glycosidases, oxidation of phenols by phenol oxidases and polymerisation of free phenols (Robards, Prenzler, Tucker, Swatsitang, & Glover, 1999). It is not possible to generalise regarding the synthesis of phenols in the peel. In Barrier 1 an increase in phenol content was recorded at H2, whereas in Mr. S 2/5 and GF 677 the increase was observed at H3 (Fig. 2B). In fruit from Ishtara rootstock, no significant differences in phenols content were observed during ripening. The highest phenol content was in peel on Mr. S 2/5 at H3 (Fig. 2B). Because no clear trends were discernable, it is not possible to identify for the different rootstocks some general behaviour in relation to phenolic content and the ripening process. This is in line with previous reports that show no general rule correlating phenolic amount with ripening stage (Tomas-Barberan et al., 2001). The only clear result was the higher content of phenols in peel as compared with flesh. Our results are in agreement with the literature. Tomas-Barberan et al. (2001) found that peel tissues usually contain larger amounts of phenolics, anthocyanins and flavonols than flesh tissues in nectarines, peaches and plums. These authors also found that the phytochemical content in peel was generally 2–3 times higher than that in flesh. Toor and Savage (2005) found

higher levels of total phenols and flavonoids in the peel of tomatoes. Kondo, Tsuda, Muto, and Ueda (2002) reported a lower polyphenols concentration in the flesh than in the skin of different apple cultivars. Li et al. (2006) showed that the contents of phenols, flavonoids and proanthocyanidins were higher in skin extract than in pulp extract in pomegranate. Probably, phenolic compounds tend to accumulate in the epidermal tissue of plants because of their potential roles in protection against ultraviolet radiation, in acting as attractants in support of seeds dispersal, and as defence chemicals against certain pathogens and predators (Dixon & Paiva, 1995).

3.4. Vitamin C

Vitamin C was determined only at the start and at the end of the harvest period (at H1 and at H3) and the results obtained are reported in Fig. 3. Also for this compound the content was about 25 times ($p < 0.05$) higher in the peel than in the flesh. The highest flesh values were recorded at H3 on Mr. S 2/5 (Fig. 3A) and the highest peel values were at H3 on Barrier 1. In general, vitamin C content in the peel increased gradually towards harvest for each rootstock, while, in the flesh, it did not increase towards harvest

for any rootstock. However, for peach, both peel and flesh contained quite small amounts of vitamin C, compared with other fruits, such as kiwifruit and orange, in which vitamin C represents the most important antioxidant. The results show that rootstock vigour does not influence vitamin C content, whereas harvesting time is an important factor. Overall, vitamin C content in peel increased as fruit ripened. This is already well known for other fruits, such as strawberry, in which ascorbic acid content increases from essentially nil when fruit is still green, to a maximum when the fruit is fully ripe (Maas, Wang, & Galletta, 1995).

3.5. β -Carotene

As for the other phytochemicals, the highest levels of β -carotene were found in peel. In comparison to the flesh, the content in the peel was about 4–5 times higher (Fig. 4). This result is widely known, as reported also by Rodriguez-Amaya (1993).

In flesh extracts, the highest β -carotene values were recorded in fruits on Ishtara, Mr. S 2/5 and on Barrier 1 (Fig. 4A), while, in the peel, the highest value was recorded on Mr. S 2/5 at H3 (Fig. 4B). Less easily understood is the behaviour observed on Ishtara and on GF 677, in which

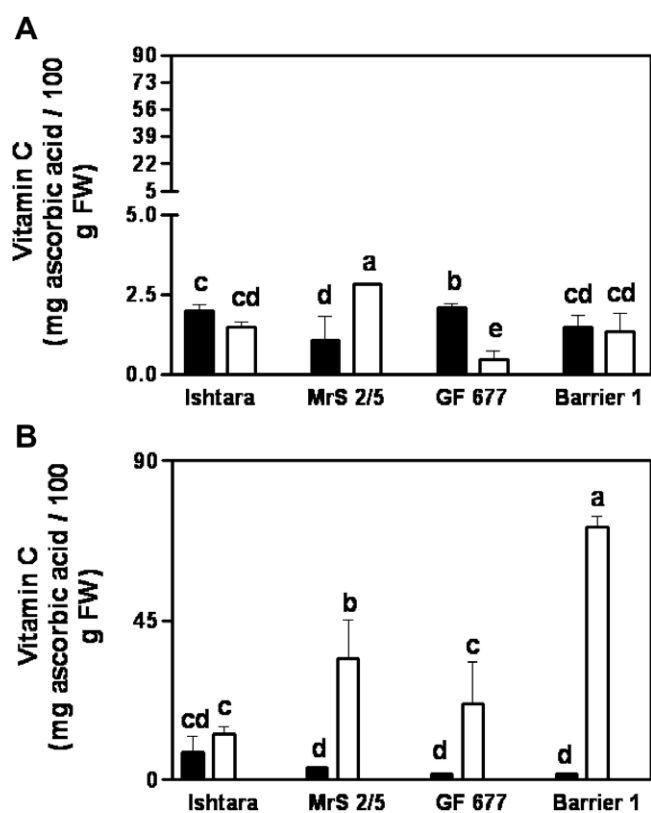


Fig. 3. Ascorbic acid content determined in flesh (A) and peel (B) of peach fruits, cv. Flavorcrest, grafted on four different rootstocks (Ishtara, Mr. S 2/5, GF 677 and Barrier 1) and harvested at two different times [30 June (black bar) and 13 July (white bar)]. Values are the means of four replicates and the standard deviation is also shown. Means followed by the same letters are not significantly different ($p = 0.05$).

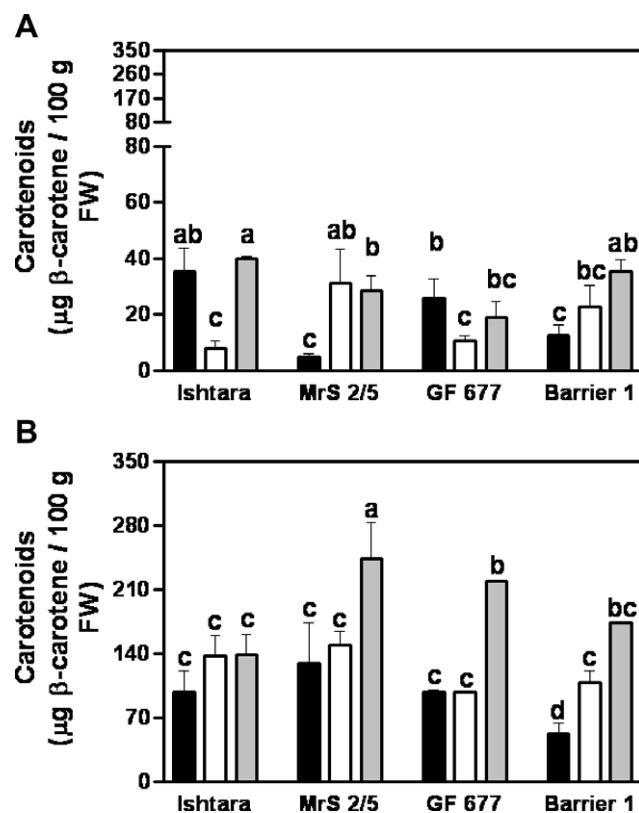


Fig. 4. β -Carotene content determined in flesh (A) and peel (B) of peach fruits, cv. Flavorcrest, grafted on four different rootstocks (Ishtara, Mr. S 2/5, GF 677 and Barrier 1) and harvested at three different times [30 June (black bar), 7 July (white bar) and 13 July (grey bar)]. Values are the means of four replicates and the standard deviation is also shown. Means followed by the same letters are not significantly different ($p = 0.05$).

significant decreases in carotenoids content were recorded at H2.

The qualitative and quantitative composition of carotenoids is influenced by many factors, including genotype, stage of maturity, climatic conditions, fraction of fruit, post-harvest handling, processing and storage conditions. Nevertheless, maturity stage is one factor that strongly affects carotenoid amount in peach, which increases during ripening in line fruits in general, due to an enhanced carotenogenesis during this period (Rodríguez-Amaya, 1993).

3.6. Correlation among total antioxidant capacity and phytochemicals

A correlation analysis between total antioxidant capacity and phytochemical constituents in fruit was carried out, to determine the contribution of each bioactive compound to total antioxidant capacity. Phenolic compounds and β -carotene were the only flesh constituents that correlated significantly with total antioxidant capacity in Barrier 1 (Table 2). This result is interesting because fruits on Barrier 1 were low in total phenols, compared to those on the other rootstocks. It indicates that phenols synthesised in fruits on Barrier 1 showed higher antioxidant properties, compared with phenols in fruit on the other rootstocks. It suggests that it is not only the total mass content of phenols but also their chemical structure that is important in determining total antioxidant capacity. It is known that the antioxidative properties of phenols are generally related to their chemical structures, with their capacities increasing with the number of hydroxyl groups (Leontowicz et al., 2002). For the other rootstocks no significant correlation between FRAP values and phytochemicals was found in the flesh.

In peel a very good correlation was found between FRAP values and different phytochemicals in all rootstocks, with the exception of Ishtara, which was characterised by having a low vitamin C and total phenols content. The fact that the correlations are significant in

the peel of fruit on the other rootstocks indicates that the peel fraction of the fruits plays a key role in determining the antioxidant properties of the whole fruit. As we reported above, phytochemicals responsible for total antioxidant capacity are located mainly in the peel.

4. Conclusions

The results show that the quality of peach fruits depends strongly on harvesting time. At present, harvesting time is determined on the basis of physical and chemical parameters (flesh firmness, background colour, titratable acidity, SSC). Our results indicate that total antioxidant capacity also represents an important parameter that should be taken into account if fruits are to develop elevated nutritional characteristics. Several authors (Gil et al., 2002; Giorgi et al., 2005) have shown that total antioxidant capacity changes as a function of cultivar and rootstock. In the same way, our results demonstrate that total antioxidant capacity and the levels of some phytochemicals (phenols, ascorbic acid and β -carotene) are significantly influenced by rootstock, even if it is not possible to define a common behaviour in terms of rootstock vigour. Indeed, rootstocks of similar vigour produced fruits with very different nutritional characteristics, indicating that the rootstock effect is more complex than just vigour. Previous studies (Giorgi et al., 2005; Tsipouridis & Thomidis, 2005) have underlined the key role of rootstock in determining the quality of production and the nutraceutical characteristics of fruits. As reported by Scalzo, Politi, Pellegrini, Mezzetti, and Battini (2005) the effect of rootstock on nutritive quality of fruits is strictly related to the interaction of rootstock with water and nutrient availability in the soil. Hence, an equilibrated and well balanced growth is reached at different soil fertility levels for different rootstocks.

In addition, the results of the present study suggest that peel represents an important source of antioxidant substances in the fruit. In fact, the amount of phenols, vitamin C and carotenoids in peach was higher in the peel than in the flesh, even if the ratio of the peel to the rest of the peach fruit is generally very low (<3% on mass basis). Also, the peel in peach fruits is not always eaten because it is not appreciated by all consumers.

These results underline the important relation between pre-harvest factors, such as rootstocks and harvesting time, and the quality and nutritional value of the fruit. It is well known that a higher consumption of fruits and vegetables with high phytochemical content can inhibit, prevent or retard chronic disease (Birth, Henrich, & Wang, 2001). However, it is difficult to link nutritional characteristics with the quality parameters (appearance, flavour, firmness, etc.) that define consumer acceptance.

Acknowledgment

This research was supported by MIUR-PRIN 2005 Project "Effect of rootstock, tree architecture and environment

Table 2

Correlations between total antioxidant capacity (FRAP values; mmol $\text{Fe}^{2+}/100 \text{ g FW}$) and vitamin C (mg/100 g FW), phenols (mg gallic acid/100 g FW) and β -carotene ($\mu\text{g}/100 \text{ g FW}$) in flesh and peel of Flavorcrest peach fruit grown on four different rootstocks (Ishtara, Mr. S 2/5, GF 677 and Barrier 1)

| | | Vitamin C | Phenols | β -Carotene |
|-----------------------|-----------|-------------------|-----------------|-------------------|
| FRAP _{flesh} | Ishtara | NS | NS | NS |
| | Mr. S 2/5 | NS | NS | NS |
| | GF 677 | NS | NS | NS |
| | Barrier 1 | NS | ($r = 0.82$)* | ($r = 0.79$)* |
| FRAP _{peel} | Ishtara | NS | NS | ($r = 0.77$)* |
| | Mr. S 2/5 | ($r = 0.97$)** | ($r = 0.82$)* | ($r = 0.96$ ***) |
| | GF 677 | ($r = 0.94$)* | ($r = 0.82$)* | ($r = 0.87$)* |
| | Barrier 1 | ($r = 0.99$ ***) | ($r = 0.81$)* | ($r = 0.98$ ***) |

In the table the significance of correlation is reported as NS: $p > 0.05$; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. When the correlation is significant the correlation coefficient is reported.

on quality properties, health and nutritional aspects of stone fruit production”.

References

- Al-Wandawi, H., Abdul-Rahman, M., & Al-Shaikhly, K. (1985). Tomato processing wastes as essential raw material sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33, 804–807.
- Bielicki, P., Czynczyk, A., & Chlebowska, D. (2000). Effect of a rootstock and tree location on yield and fruit quality of “KingJonagold” apples. *Journal of Fruit Ornamental Plant Research*, 8, 65–71.
- Birth, D. F., Henrich, S., & Wang, W. (2001). Dietary agents in cancer prevention: Flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacology and Therapeutics*, 90, 157–177.
- Cevallos-Casals, B. A., Byrne, D., Okie, W. R., & Cisneros-Zevallos, L. (2006). Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compounds and enhanced functional properties. *Food Chemistry*, 96, 273–280.
- Chalmers, D. J., Mitchell, P. D., & Van Heek, L. (1981). Control of peach tree growth and productivity by regulated water supply, tree density and summer pruning. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 106, 307–312.
- Chang, S., Tan, C., Frankel, E. L., & Barrett, D. M. (2000). Low-density lipoprotein antioxidant activity of phenolic compounds and polyphenol oxidase activity in selected clingstone peach cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 147–151.
- Chun, J., & Fallahi, E. (2001). The influence of spacing and rootstock on foliar mineral nutrition and fruit quality of “Fuji” apples trees. *Journal of Korean Society of Horticultural Science*, 42, 621–624.
- Degl’Innocenti, E., Guidi, L., Pardossi, A., & Tognoni, F. (2005). Biochemical study of leaf browning in minimally processed leaves of lettuce. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 9980–9984.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3010–3014.
- Dixon, R. A., & Paiva, N. I. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, 7, 1085–1097.
- Gil, M., Tomas-Barberan, A. T., Hess-Pierce, B., & Kader, A. A. (2002). Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids and vitamin C content of nectarine and plum cultivars from California. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4976–4982.
- Giorgi, M., Capocasa, F., Scalzo, J., Murri, G., Battino, M., & Mezzetti, B. (2005). The rootstock effects on plant adaptability, production, fruit quality, and nutrition in the peach (cv. “Suncrest”). *Scientia Horticulturae*, 107, 36–42.
- Kampfenkel, K., Van Montagu, M., & Inzè, D. (1995). Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue. *Analytical Biochemistry*, 225, 165–167.
- Kondo, S., Tsuda, K., Muto, N., & Ueda, J. (2002). Antioxidative activity of apples skin or flesh extracts associated with fruit development on selected apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 96, 177–185.
- Lee, S. K., & Kader, A. A. (2000). Pre-harvest and post-harvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20, 207–220.
- Leontowicz, H., Gorinstein, S., Lojek, A., Leontowicz, M., Ciz, M., Soliva-Fortuny, R., et al. (2002). Comparative content of some bioactive compounds in apples, peaches and pears and their influence on lipids and antioxidant capacity in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 603–610.
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., & Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 96, 254–260.
- Maas, J. L., Wang, S. L., & Galletta, G. G. (1995). Health enhancing properties of strawberry fruits. In M. P. Pritts, C. K. Chandler, & T. E. Crocker (Eds.), *IV Proceeding North American Strawberry Growers Conference* (pp. 11–18). Cainsville: University of Florida Press.
- Reyes, L. F., Villarreal, J. E., & Cisneros-Zevallos, L. (2007). The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit or vegetable tissue. *Food Chemistry*, 101, 1254–1262.
- Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., & Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66, 401–436.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (1993). Nature and distribution of carotenoids in foods. In G. Charalambous (Ed.), *Shelf life studies of foods and beverages. Chemical, biological, physical and nutritional aspects*. Amsterdam: Elsevier Science Publisher (pp. 547–589).
- Scalzo, J., Politi, A., Pellegrini, N., Mezzetti, B., & Battini, M. (2005). Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, 21, 207–213.
- Szeto, Y. T., Tomlinson, B., & Benzie, I. F. F. (2002). Total antioxidant and ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables: Implication for dietary planning and food preservation. *British Journal of Nutrition*, 87, 55–59.
- Tavarini, S., Degl’Innocenti, E., Pardossi, A., & Guidi, L. (2007). Biochemical aspects in two minimally processed lettuces upon storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 214–219.
- Tavarini, S., Degl’Innocenti, E., Remorini, D., Massai, R., & Guidi, L. (in press). Preliminary characterization of peach cultivars for their antioxidant capacity. *International Journal of Food Science and Technology*, doi:10.1111/j.0950-5423.2007.01520.x.
- Tomas-Barberan, F. A., Gil, M. I., Cremin, P., Waterhouse, A. L., Hess-Pierce, B., & Kader, A. A. (2001). HPLC–DAD–ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4748–4760.
- Toor, R. K., & Savage, G. P. (2005). Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. *Food Research International*, 38, 487–494.
- Tsipouridis, C., & Thomidis, T. (2005). Effect of 14 peach rootstocks on the yield, fruit quality, mortality, girth expansion and resistance to frost damages of May Crest peach variety and their susceptibility on *Phytophthora citrophthora*. *Scientia Horticulturae*, 103, 421–428.
- Wolfe, K., Wu, X. Z., & Liu, R. H. (2003). Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 609–614.

Ringraziamenti

Desidero ringraziare il Prof. Rossano Massai ed il Dott. Damiano Remorini, del Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose "G: Scaramuzzi" per il contributo scientifico ed umano e per i preziosi suggerimenti che mi hanno offerto durante questi tre anni di lavoro. Ringrazio l'azienda agricola "Camillo Pacini e Figli" di Rigoli (Pisa) che ci ha fornito i frutti di actinidia utilizzati in questo studio.

Grazie a Mabel (Dott.ssa Maria Isabel Gil) e a Pachi (Dott. Francisco Tomas-Barberan), del CEBAS-CSIC di Murcia, per gli insegnamenti che mi hanno dato e per aver reso il mio soggiorno in Spagna un'avventura meravigliosa, non solo scientificamente. Un pensiero e un abbraccio forte va a tutte le persone che lì ho conosciuto e che, anche se per un breve periodo, sono diventate la mia famiglia: Mercedes, Paco, Paula, Francesca, Marta, Julian, Nathalie.

Grazie Elena!! Per essere stata la migliore compagna di laboratorio che avessi potuto desiderare... per l'aiuto prezioso ed indispensabile e per essermi stata sempre vicina.

Ed infine.... Grazie di cuore Lucia per essere stata la mia maestra in questo lungo periodo trascorso insieme, da te ho imparato tanto, ho imparato ad amare questo lavoro e la ricerca. Grazie per le giornate che hai passato lavorando alla scrivania con me..... e scusa se qualche volta ho rischiato di farti addormentare!!! Grazie davvero per tutto e soprattutto grazie per essere mia amica!!!